



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PISA

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Tesi di Laurea

VALUTAZIONE DI DOSAGGI SERIATI DI MESOTELINA SIERICA IN PAZIENTI AFFETTI DA MESOTELIOMA MALIGNO DELLA PLEURA

Relatore:

Chiar.mo Prof. Franco OTTENGA

Candidato:

Marta Iuzzolini

Anno Accademico 2006-2007

INDICE

RIASSUNTO	3
1 INTRODUZIONE	5
1.1 Mineralogia e merceologia dell'amianto	5
1.3 Fisiologia dell'apparato respiratorio	11
1.4 Fisiopatologia delle pleure	12
1.5 Patologie correlate all' amianto.....	22
1.6 Il mesotelioma pleurico	28
1.7 Sorveglianza sanitaria	48
1.8 I markers oncologici.....	51
2 MATERIALI E METODI	57
2.1 Caratteristiche della popolazione in esame	57
2.2 Dosaggio della Mesotelina sierica solubile	58
3 RISULTATI.....	59
4 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	72
5 BIBLIOGRAFIA	77

RIASSUNTO

Il mesotelioma pleurico (MPM) è un tumore maligno con una prognosi generalmente infausta a breve termine. Le conoscenze epidemiologiche e di storia naturale consentono di identificare come principale fattore di rischio l'esposizione all'asbesto, anche se una reale esposizione non è dimostrabile in circa il 20% dei pazienti. Fino all'inizio degli anni '90 l'asbesto è stato ampiamente utilizzato in una enorme varietà di impieghi sia industriali che civili con il risultato che la popolazione potenzialmente esposta a questo cancerogeno risulta essere veramente considerevole. Poiché il MPM si caratterizza per un periodo di latenza anche di 30-40 anni dall'inizio dell'esposizione, la messa al bando dell'amianto non è sovrapponibile con una immediata riduzione né dell'incidenza né della mortalità per MPM. Infatti, l'incidenza di MPM, che negli anni passati era considerata una neoplasia estremamente rara, è in continuo aumento, e nei paesi europei occidentali è previsto un picco di mortalità per il 2019-2020.

A fronte di una così vasta popolazione di soggetti esposti sia professionalmente che non, ad oggi gli unici strumenti di screening o di diagnosi precoce proposti si basano su indagini radiologiche, con conseguenti ed evidenti problematiche di natura etica ed economica. La possibilità di impiego di indagini non invasive ed a basso costo per lo screening degli ex esposti ha indotto numerosi ricercatori allo studio di markers biomolecolari di diagnosi precoce per il MPM. Già al momento attuale differenti markers oncologici vengono utilizzati per la valutazione di alcune malattie tumorali in differenti momenti, dalla diagnosi fino alla valutazione della risposta alla terapia, a fini prognostici o, ancora, per la

diagnosi precoce di recidive e/o metastasi. Ad oggi, tra i markers che in diversi studi epidemiologici sono risultati associati all'MPM, uno dei più promettenti sembra essere la mesotelina sierica, che è stato visto essere associato a MPM in maniera statisticamente significativa e che è stato ipotizzato avere una utilità clinica di tipo diagnostico, prognostico e come indicatore di risposta al trattamento.

Con la presente tesi ci si è dati l'obiettivo di studiare, appunto, l'andamento dei valori di mesotelina sierica dosati in alcuni pazienti affetti da MPM epitelioromorfo, selezionati da una più ampia casistica ricoverata per diagnosi e cura presso l'Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana.

I risultati di questa indagine sono promettenti e costituiscono uno stimolo per uno studio più approfondito sul significato clinico del marcatore in una popolazione di pazienti più numerosa.

1 INTRODUZIONE

1.1 Mineralogia e merceologia dell'amianto

L'amianto o asbesto è un minerale con struttura microcristallina e aspetto fibroso non combustibile (*amianto* dal greco: incorruttibile; asbesto dal greco: inestinguibile) che presenta numerose caratteristiche tecniche che lo hanno reso utile in centinaia di usi industriali con elevati costi in termini di salute, specialmente per la sua capacità di generare una polverosità del tutto particolare.

Esistono due varietà principali distinte da un punto di vista chimico e morfologico: amianto del gruppo *serpentino* detto anche *crisotilo* (fig.1) o amianto bianco, silicato idrato di Mg, costituito da fibre morbide e flessibili e amianto del gruppo anfiboli o orneblenda, silicato idrato di Na e Fe, le cui fibre sono dritte, rigide e più fragili. Gli anfiboli comprendono la *crocidolite* (fig.2) o amianto blu, *l'amosite* o amianto bruno, la *tremolite*, *l'antofillite* e *l'actinolite*.

Il crisotilo ha un alto contenuto di Mg, aspetto ricurvo e dotato di una certa morbidezza, ha una struttura ruotata intorno ad un asse centrale con subunità fibrillari a struttura tubulare, lunghezza fino a 7 cm, diametro di 0,75-1,5 μm , sub-unità fibrillari con un diametro di 0,02-0,04 μm .



Fig.1: amianto-crisotilo

Minerale	Definizione	Formula	Colore	Durezza (Mhos)	Punto di fusione °C	Flessibilità e filabilità
Crisotilo	Crisotilo	$Mg_3Si_2O_5(OH)_4$	Verdastro, bianco, grigio	2,5 – 4	1520	Molto buona
Riebeckite	Crocidolite	$Na_2(Mg,Fe)_6Si_8O_{22}(OH)_2$	Blu	5 – 6	1190	Buona
Grunerite	Amosite	$(Mg,Fe)_7Si_8O_{22}(OH)_2$	Bruno-giallo, grigiastro	5,5 – 6	1400	Discreta
Antofillite	Antofillite	$(Mg,Fe)_7Si_8O_{22}(OH)_2$	Giallastro, verdastro, bianco	5,5 – 6	1470	Scarsa
Tremolite	Tremolite	$Ca_2(Mg,Fe)_5Si_8O_{22}(OH)_2$	Grigio, verdastro, giallastro	5,5 – 6	1360	Scarsa
Actinolite Tremolite	Actinolite	$Ca_2(Mg,Fe)_5Si_8O_{22}(OH)_2$	Verdastro	6	1390	Scarsa

Gli anfiboli hanno invece un elevato contenuto in Fe, una struttura rigida e lineare, più fragile del crisotilo e con spiccata tendenza a dividersi nelle sub-unità fibrillari in senso longitudinale, con una lunghezza variabile e diametro di 1,5-4 μm , e un diametro delle sub-unità fibrillari di 0,1-0,2 μm .



Fig.2: Amianto-crocidolite.

Gli anfiboli, anche se meno diffusi, sono più patogeni del crisotilo, soprattutto rispetto all'induzione di tumori pleurici maligni come il mesotelioma.

Queste due varietà di amianto sono facilmente reperibili, ricavate per lo più da miniere a cielo aperto in seguito alla frantumazione della roccia madre, dove l'amianto è unito ad altri minerali, e successivo arricchimento.

In natura si ritrovano numerose forme di amianto non perfettamente tipiche dal punto di vista della composizione chimica, tanto da rientrare con qualche fatica nella definizione di una o dell'altra delle specie mineralogiche sopra citate. Altro elemento importante è costituito dal fatto che il crisotilo quale si trova nei giacimenti naturali è il più delle volte (a prescindere da una condizione di sostanziale "purezza" dal punto di vista tecnologico e quindi commerciale) non puro da un punto di vista mineralogico, per la presenza di altre forme di amianto quali la tremolite e/o altri minerali fibrosi che non rientrano nella definizione di "amianto" ma a buona ragione possono essere detti "asbestiformi".

Il motivo del vasto e così vario impiego dell'amianto, si conoscono più di 3.500 applicazioni, risiede nella sua resistenza meccanica e flessibilità, nel fatto che è indistruttibile, non infiammabile, friabile, nelle sue proprietà termoisolanti ("termo-coibentanti"), nella sua resistenza al calore e ad altri agenti aggressivi come gli acidi e nella possibilità di filarlo e tesserlo (anche frammisto ad altre fibre come il cotone, la canapa e il nylon) ed anche nella possibilità di essere facilmente lavorato (per imbibimento, pressatura).

È stato utilizzato in diverse percentuali unito a materiali da costruzioni (calce, gesso, cemento, malte da intonaci) e con alcuni polimeri come la gomma e il PVC.

L'amianto si presenta nelle seguenti forme:

- *fortemente agglomerato*: detto anche in matrice compatta; utilizzato nei prodotti in cemento-amianto in edilizia (facciate, lastre ondulate, tubazioni, depositi per l'acqua e canalizzazioni), ed in altri manufatti e

oggetti quali fioriere, guarnizioni per freni e frizioni (unito a resine), guarnizioni (unito a gomme).

- *allo stato puro*: in corde, tessuti, materiali di riempimento.

Il suo più ampio impiego è stato nell'edilizia, dove l'amianto veniva impiegato sia come spray (mischiato cioè a leganti non troppo tenaci) da applicare a elementi metallici o altro con funzioni termo-isolanti (sfruttando le proprietà ignifughe), che impastato con altri materiali (la cosiddetta matrice) a cominciare dal cemento. In questo modo si aumenta la resistenza del cemento contenendo il peso e rendendo più facile realizzare elementi prefabbricati, impiegando sia l'amianto anfibolo sia quello serpentino. In Italia il cemento-amianto è noto come *Eternit*, soprattutto per l'elemento ondulato con il quale venivano realizzate le coperture dei tetti (principalmente in Italia settentrionale). Tuttavia ne sono stati utilizzati anche altri tipi, come quello per le condutture e cisterne dell'acqua o i pannelli usati per isolare acusticamente e termicamente gli edifici, in particolare quelli edificati in vetrocemento o in elementi metallici.

Altro settore in cui l'amianto è stato largamente sfruttato per le sue caratteristiche di materiale fonoassorbente e termoisolante a basso costo è stato quello della cantieristica navale. In Toscana, in particolare, grosse quantità di asbesto-crocidolite sono state utilizzate nella cantieristica navale, per i più svariati tipi di termoisolamento: dalla coibentazione di camini, caldaie, tubazioni e valvole, sotto forma di pannelli e cartoni, al rivestimento delle stive con polveri di amianto impastate con resine (Dodoli D, Buselli R et al.; 1990). Una stima diretta dell'esposizione dei lavoratori di questo settore produttivo eseguita negli anni 70 da tecnici INAIL rilevava una concentrazione di 2,9 fibre/cm³ nel piazzale all'aperto durante la demolizione del rivestimento in amianto di

paratie del locale caldaie e addirittura di 73 fibre/cm³ nel locale caldaie stesso (Verdel U G, Ripanucci G R dati INAIL, 1971).

D'altro canto, se si considera l'incidenza di mesotelioma pleurico quale "fedele" indicatore dell'entità dell'esposizione ad amianto in una data zona, si nota come sui 714 casi di mesotelioma maligno registrati in Toscana dal CSPO di Firenze nel periodo 1988-2003, ben 180 provengano dalla provincia di Livorno, area ove forte è la presenza della cantieristica navale. (Atti del Seminario di Studio, Firenze 2005)

Anche nei mezzi di trasporto l'amianto aveva un ruolo cruciale sia perché garantiva la frenata di auto, moto e veicoli pesanti (il materiale antifrizione come le pastiglie dei freni a disco e le ganasce di quelli a tamburo conteneva amianto), sia come materiale isolante all'interno dei vagoni.

Altri comparti in cui è stato documentato l'utilizzo di manufatti in amianto, principalmente per la coibentazione di forni, tubazioni e caldaie, sono quelli chimico e petrolchimico, metalmeccanico e ceramiche/vetro. (Guglielmi G., Dipalma N., 2005)

1.2 Anatomia delle pleure

Le pleure sono membrane sierose che avvolgono separatamente ciascun polmone. Si distinguono una pleura viscerale e una parietale che rivestono rispettivamente la superficie dell'organo e le pareti delle logge pleuropolmonari e continuandosi l'una nell'altra, a livello dell'ilo, formano uno spazio chiuso intorno al polmone che prende il nome di cavità pleurica. La *pleura viscerale* è una membrana sottile e trasparente che riveste, aderendovi intimamente, la superficie del polmone e si porta profondamente nelle scissure interlobari, fino in vicinanza dell'ilo. A tale livello, dopo aver rivestito per breve tratto il peduncolo polmonare continua con la parte mediastinica della pleura parietale nella quale si

riflette. La *pleura parietale* può essere suddivisa in una parte costale, una diaframmatica e una mediastinica.

La pleura costale, spessa e resistente, si estende dalla faccia posteriore dello sterno fino alla faccia laterale dei corpi vertebrali. Con l'interposizione della fascia endotoracica (membrana fibrosa), la pleura costale si pone in rapporto con il muscolo trasverso del torace, i vasi toracici interni, le coste, i muscoli intercostali e sottocostali, il tratto iniziale dei vasi e nervi intercostali, la catena dell'ortosimpatico e le vene azygos ed emiazygos.

In alto si estende a ricoprire l'apice del polmone e prende rapporto con gli organi che si trovano in corrispondenza dell'apertura superiore del torace, con il ganglio cervicale inferiore dell'ortosimpatico, con le arterie toraciche interne, vertebrali e intercostali supreme.

La cupola pleurale risale 2-3 cm al di sopra della prima costa, giungendo con la sua parte più alta circa a metà del corpo della settima vertebra cervicale. Essa è rinforzata e fissata allo scheletro da fasci fibrosi e muscolari che formano l'apparato sospenditore della pleura. Fanno parte dell'apparato sospenditore il *legamento vertebro-pleurale*, dipendenza della fascia cervicale profonda, che va dal corpo della sesta-settima vertebra cervicale alla parte mediale della cupola pleurica; il *legamento costo-pleurale*, che si tende fra il collo della prima costa e la parte laterale della cupola; il *legamento scaleno-pleurale*, che è una espansione fibrosa della fascia del muscolo scaleno anteriore e che raggiunge la parte anteriore della cupola pleurale e la prima costa. La cupola pleurale è inoltre raggiunta da tralci connettivali provenienti dall'avventizia dell'esofago e dalla tonaca fibrosa della trachea. Fa anche parte dell'apparato sospenditore un piccolo muscolo, lo *scaleno minimo*, che teso fra i tubercoli anteriori dei processi trasversi della sesta-settima

vertebra cervicale e il margine mediale della prima costa, invia fascetti tendinei alla cupola pleurica e, contraendosi, la tende.

La pleura mediastinica è una membrana sottile e trasparente, tesa tra lo sterno e la colonna vertebrale. È formata da due sottili lamine, destra e sinistra, che delimitano il mediastino. A livello del peduncolo polmonare le parti anteriore e posteriore della lamina si incontrano formando una piega, il *legamento polmonare*, di forma triangolare, con la base in basso e l'apice in alto; la base di questo legamento si fissa al diaframma, l'apice raggiunge la parte inferiore del peduncolo polmonare.

A sinistra la pleura mediastinica è intimamente unita al pericardio (pleura pericardica) per mezzo di connettivo denso, in alto prende rapporto con l'arco dell'aorta, con le arterie carotide comune e succlavia, con la vena anonima, con il nervo vago, con il nervo frenico; posteriormente, forma il *seno interaorticoesofageo* poiché si interpone fra esofago e aorta toracica. A destra la pleura mediastinica si insinua fra l'esofago e la vena azygos formando il *seno interazigosoesofageo*; aderisce inoltre al pericardio (pleura pericardica) e si mette in rapporto con l'aorta ascendente, con le vene cava superiore e azygos, con i nervi vago e frenico, con la trachea e l'esofago. La pleura diaframmatica si estende sulla faccia superiore delle parti laterali del diaframma, aderendo intimamente a esso. Medialmente continua nella pleura mediastinica, lateralmente nella pleura costovertebrale. (Balboni G., "anatomia umana" terza edizione, 2000)

1.3 Fisiologia dell'apparato respiratorio

Il polmone è una struttura elastica che, in assenza di una forza che lo tenga espanso, collassa espellendo l'aria che contiene attraverso la trachea. Esso, sospeso al suo ilo, fluttua nella cavità toracica ed è

circondato da uno strato molto sottile di *liquido pleurico* che agisce da lubrificante per i movimenti del polmone all'interno della cavità stessa. La continua rimozione di questo liquido attraverso i vasi linfatici mantiene una leggera aspirazione tra la superficie della pleura viscerale e quella della pleura parietale. I polmoni, pertanto, risultano perfettamente adesi alla parete toracica, ma nei movimenti fisiologici di espansione e di retrazione del torace la loro superficie e quella della parete toracica, ben lubrificate dal liquido pleurico, possono liberamente scivolare l'una sull'altra.

La *pressione pleurica*, cioè quella che vige nello stretto spazio compreso tra la pleura viscerale e quella parietale, per la leggera aspirazione di cui si è detto sopra sarà leggermente negativa. All'inizio dell'inspirazione, la pressione pleurica normale è pari all'incirca a $-5 \text{ cm H}_2\text{O}$, che è la negatività richiesta per mantenere il grado di espansione in cui si trovano i polmoni nella fase di riposo. Durante una inspirazione normale, poi, l'espansione della gabbia toracica esercita sulla superficie dei polmoni una forza ancora maggiore creando una pressione intrapleurica ancora più negativa, che scende, in media, ad un valore di $-7,5 \text{ cm H}_2\text{O}$ a cui corrisponde un aumento del volume polmonare di circa 0,5 litri. Durante l'espirazione si producono effetti opposti. (Guyton & Hall. "Fisiologia medica", nona edizione, 1996).

1.4 Fisiopatologia delle pleure

La pleura è protetta dall'azione degli agenti esterni inalati grazie al loro intrappolamento negli alveoli o nell'interstizio e alla loro successiva eliminazione per via aerea o linfatica. Nel connettivo sottopleurico (barriera polmone-pleura), formato da fibre elastiche e vasi linfatici, le particelle inalate sono rimosse per fagocitosi e trasportate dalla fitta rete di vasi linfatici verso l'ilo polmonare.

La deposizione del particolato inalato (che in parte sarà rimosso dal sistema della cosiddetta “*clearence muco-ciliare*” e in parte sarà ritenuto) dipende dalle caratteristiche fisiche delle particelle stesse e dalle modalità ventilatorie.

Le modalità di deposizione possono essere così classificate: per impatto inerziale, per sedimentazione gravitazionale, per intercettamento, per precipitazione elettrostatica ed infine per diffusione.

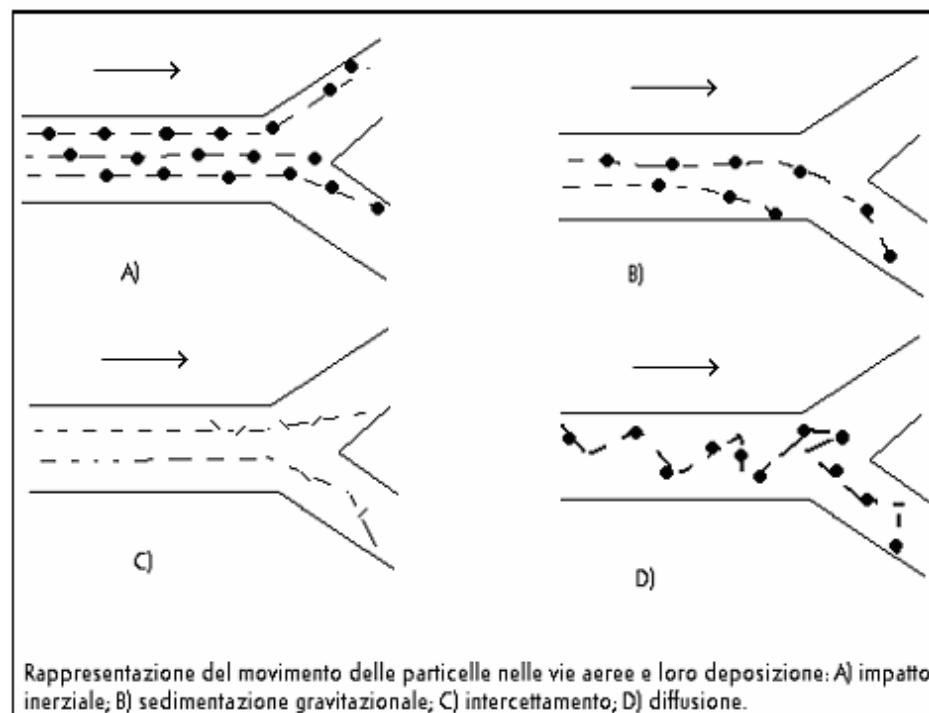
Le particelle con diametro fino a 20 μm si depositano per impatto inerziale sulla mucosa delle prime vie aeree (naso, laringe, trachea) e dei bronchi segmentali e sub-segmentali. La sedimentazione gravitazionale si ha nei bronchi e prevalentemente nelle piccole vie aeree (bronchioli) e negli alveoli dove, per la bassa velocità del flusso, l'effetto gravità diventa predominante.

Tale modalità di deposizione interessa particelle fino a 0,5 μm di diametro, allorquando divengono preponderanti meccanismi di diffusione che esplicano la loro azione massima per le particelle di diametro inferiore a 0,1 μm .

L'intercettamento riguarda soprattutto le fibre e le particelle irregolari nelle quali il diametro aerodinamico risulta significativamente più importante. Il comportamento delle fibre varia in funzione del rapporto diametro/lunghezza, per cui il comportamento di una fibra corta si avvicina a quello di una particella compatta. Le fibre corte (< 5 μm di lunghezza) raggiungono il parenchima polmonare più facilmente delle lunghe.

Le fibre lunghe che presentano un diametro inferiore a 3,5 μm , trascinate assialmente nella corrente aerea, possono evitare l'impatto e la sedimentazione nelle vie aeree più ampie e arrivare alle pareti dei bronchioli terminali e respiratori, dove vengono intercettate. Il meccanismo di precipitazione elettrostatica è stato recentemente

rivalutato con studi sulla deposizione di polveri minerali “fresche” recentemente fratturate e di fibre di crisotilo con elevata carica elettrica. (Casula D.; “Medicina Del Lavoro” terza edizione, 2003)



Come si è detto, l'amianto è un minerale fibroso e anche se è piuttosto friabile, le singole fibre sono molto resistenti e piccolissime: meno di mezzo millesimo di millimetro di diametro per 2-5 millesimi di millimetro di lunghezza. E' chiaro che elementi così piccoli e leggeri possono con grande facilità essere inalati senza essere arrestati dalle ciglia che ricoprono l'epitelio delle vie aeree. Di conseguenza si depositano nei bronchi e negli alveoli dei polmoni per poi migrare verso la pleura, danneggiando i tessuti.

Le fibre elementari hanno diametri molto inferiori al micron, quelle degli anfiboli pari a $0,2\ \mu\text{m}$ e quelle del crisotilo dieci volte più fini, pari a $0,02\ \mu\text{m}$.

Quando viene sollecitato l'amianto, sia esso contenuto nei manufatti o come tale, si disperde nell'atmosfera dando origine a una miscela di fibre tra loro in proporzioni non costanti, schematicamente suddivisibili in grandi, medie e ultrafini. Proprio per la grande variabilità percentuale di fibre prodotte, variabile questa condizionata dalle modalità di trattamento del materiale stesso, non è possibile definire in modo certo l'entità di un inquinamento atmosferico misurando soltanto una delle componenti dimensionali.

Le fibre grandi sono fasci del diametro da unità a decine di μm , lunghe da decine a centinaia di μm , non sono respirabili e, avendo grande massa, sedimentano molto rapidamente per gravità. Sono comunque pericolose perché quando sollecitate possono ulteriormente sfibrarsi generando numerosissime fibre più fini. Le fibre medie, con diametro da uno a pochi μm e lunghezza da alcuni ad alcune decine di μm , ben visibili al microscopio ottico, respirabili, possono giungere agli alveoli polmonari con l'aria inalata.

Le fibre ultrafini che sono anche ultracorte, con un diametro molto inferiore a 1 μm e lunghezza inferiore a 5 μm , invisibili al microscopio ottico e studiabili soltanto al microscopio elettronico, sono respirabili e hanno massa tanto ridotta da fluttuare nell'aria per tempi lunghi con conseguente possibilità di spostamenti a distanze anche notevoli rispetto al punto di emissione. Quest'ultimo tipo di fibre e specialmente quelle molto rigide appartenenti alla famiglia degli anfiboli sono un'eccezione rispetto alle altre particelle inalate, poiché sono in grado di superare la barriera polmone-pleura e sono di difficile drenaggio linfatico. Il passaggio delle fibre nel cavo pleurico è direttamente proporzionale al numero di fibre ultrafini, specialmente anfiboli, presenti negli alveoli adiacenti alla pleura. Ciò è comprovato dal comportamento degli indicatori benigni di avvenuto passaggio di fibre

in pleura: le *placche pleuriche*. Esse sono una generica reazione irritativa alle fibre presenti nella pleura e tendono gradualmente ad aumentare di frequenza con l'aumentare dell'esposizione, fino ad interessare la quasi totalità degli individui ad esposizioni molto elevate. Il ruolo dei vari tipi di fibre nello sviluppo del mesotelioma pleurico maligno è ancora oggi oggetto di pareri contrastanti.

Alcuni Autori infatti, come Chiappino, Boutin e De Vuyst, utilizzando la microscopia elettronica ad altissima sensibilità (TEM), hanno avvalorato la tesi delle fibre ultrafini come principale causa di mesotelioma. Per tali Autori queste fibre, una volta passate dal polmone alla pleura, si concentrerebbero come le particelle "carboniose" attorno agli stomi linfatici della pleura parietale; proprio questi microaggregati puntiformi peristomali, ovvero i "black spots", visibili anche ad occhio nudo, costituirebbero i punti ove l'amianto sviluppa la sua azione cancerogena di iniziatore e promotore sul mesotelio. Inoltre le fibre che si dispongono attorno agli stomi sono difficilmente asportabili per via linfatica e quindi permanerebbero per decenni. (Chiappino G, La Medicina del Lavoro, 2005; Boutin et al., Am J Resp Crit Care Med 1996)

Altri Autori, come Dodson e Roggli, si oppongono a tale tesi affermando che: "le fibre di asbesto di tutte le lunghezze inducono risposte patologiche, e cautela si dovrebbe usare quando si tenta di escludere qualche popolazione di fibre inalate dalla contribuzione al potenziale sviluppo di malattie asbesto-correlate"; per quanto riguarda la presenza dei black spots, essi asseriscono che l'occorenza nella pleura parietale dimostrerebbe come la barriera polmone-pleura parietale non sia affatto invalicabile anche per le particelle di dimensioni maggiori delle fibre "ultrafini" e "ultracorte". Tali agglomerati pleurici parietali, includenti particelle antracotiche e fibre minerali, sono

stati ad esempio dimostrati nel 92,7 % di 150 successive autopsie di abitanti in aree urbane.(Roggli VL et al., Pathology of Asbestos-Associated Disease)

a) Caratteristiche del tessuto mesoteliale

Il mesotelio è un residuo embrionale persistente nell'adulto, derivato dal rivestimento della primitiva cavità celomatica e mantiene, oltre ad una spiccata reattività, anche una tipica multipotenzialità con capacità di differenziarsi sia in senso epiteliale che connettivale, creando un polimorfismo istologico che rende molto difficile la diagnosi microscopica del mesotelioma e la sua diagnosi differenziale e che è inoltre responsabile della sua peculiare malignità e della refrattarietà alle terapie antitumorali. La particolare reattività del mesotelio sembra essere stimolata da strutture fisiche fibrose, rigide, cronicamente irritanti. Essa si manifesta con transitorie manifestazioni di flogosi sottoforma di versamenti, con formazione di placche pleuriche o di fibrosi peritoneale per stimoli persistenti in grado di provocare fibrogenesi e con la comparsa del mesotelioma maligno, probabilmente con il contributo della suscettibilità genetica.

La reattività particolarmente vivace del tessuto mesoteliale, anche verso stimoli generici come la irritazione cronica, permetterebbe di comprendere come anche una scarsa quantità di fibre concentrata in aree limitate, puntiformi, per esempio le aree circostanti gli stomi linfatici, possa essere sufficiente a provocare una risposta neoplastica, oltre alla reazione sclerogena delle placche.

b) Cancerogenesi

I meccanismi chiamati in causa per la cancerogenesi da amianto sono fondamentalmente: l'azione genotossica da radicali liberi, l'interferenza

con la meccanica della mitosi, l'induzione di fattori favorenti la proliferazione cellulare, l'assorbimento e veicolazione di cancerogeni chimici. Una caratteristica peculiare dell'amianto è che la sua *biopersistenza* (Bianchi C., Eur J Cancer Prev 1997 Apr.), ossia il tempo di persistenza dei cancerogeni nei tessuti prima di essere metabolizzati ed eliminati, è lunghissima, ed elimina la necessità di esposizioni ripetute per mantenere il focolaio attivo.

La cancerogenesi inizia nella pleura parietale, presso uno stoma linfatico dove si è accumulata una quantità di fibre adeguata ad avviarla, quantità ancora imprecisata ma sicuramente modesta. L'amianto agisce nelle fasi di iniziazione attraverso meccanismi epigenetici, o meglio, indirettamente genotossici, come la generazione di radicali liberi, o l'interferenza fisica con la segregazione cromosomica nel corso della mitosi, cui conseguono perdite o aberrazioni cromosomiche in anafase. Inoltre, l'esposizione ad asbesto assume rilievo anche nelle fasi di promozione, con l'induzione della proliferazione cellulare attraverso l'aumento della sintesi del DNA e l'iperplasia e displasia cellulari a livello delle cellule mesoteliali, che normalmente non proliferano. Queste caratteristiche, nel tempo, possono stimolare costantemente le cellule mesoteliali fino a far esplodere la neoplasia maligna. (D.Casula; "Medicina Del Lavoro" terza edizione, 2003).

La rapidità e la malignità della neoplasia non è solo funzione della "dose" (regola generale per la cancerogenesi) di fibre accumulata nei punti della pleura cosiddetti "caldi", ma piuttosto dalle capacità difensive di quel tessuto: riparazione di alterazioni del DNA, attivazione di geni oncosoppressori; oppure dalle difese dell'organismo, tra cui la più importante è sicuramente la sorveglianza immunitaria.

Sebbene l'asbesto sia indiscutibilmente l'agente eziologico principale nel determinismo del mesotelioma (circa l'80% dei soggetti con mesotelioma

riconosce una pregressa esposizione professionale all'amianto), in realtà in ben il 20% dei casi di MM non è possibile riscontrare una esposizione ad amianto né ambientale né occupazionale. Ciò ha fatto ipotizzare che altri cofattori entrino in gioco: l'esposizione a radiazioni ionizzanti (solo in pochissimi casi di ex-irradiati per timoma), la suscettibilità genetica e l'azione di un polyomavirus chiamato SV-40. Sembra invece mancare, nella genesi del mesotelioma, la sinergia con il fumo di sigaretta, a differenza di ciò che avviene nel carcinoma polmonare.

Ad avvalorare l'ipotesi di una significativa suscettibilità genetica, per quanto riguarda il mesotelioma pleurico maligno, si può portare all'attenzione uno studio su popolazioni di tre villaggi della Turchia, Karain Tuzköy e Karlik, scavati all'interno di rocce ricche di erionite, un minerale contenente asbesto. Nonostante le tre popolazioni fossero ugualmente esposte all'asbesto l'incidenza di MPM si è dimostrata diversa nei tre villaggi. Infatti, mentre a Karain e Tuzköy si registrò un'alta incidenza di mesoteliomi (causa il 50% dei decessi) a Karlik solo una donna risultò affetta da MPM ed era immigrata da Karain per motivi matrimoniali. Le peculiari caratteristiche etnografiche di questi popoli (isolamento e quindi più frequenti unioni fra consanguinei) hanno favorito l'analisi di sei generazioni di abitanti, equivalenti a 526 individui, nei quali si è potuto supporre una trasmissione geneticamente determinata, probabilmente di tipo autosomico dominante. La suscettibilità genetica è stata anche sottolineata dall'osservazione di un'incidenza della neoplasia fra gli immigrati di Karain e Tuzköy stabiliti in Germania e Svezia uguale, se non addirittura maggiore, rispetto alla popolazione residente in Turchia. Questo studio ha portato alla conclusione della supposta esistenza di un gene in grado di incrementare la suscettibilità, in alcuni individui, a contrarre questa rara neoplasia. (Carbone et al.,2001)

In tutti i tumori esiste una suscettibilità individuale, ma nel mesotelioma maligno, essa gioca un ruolo chiave: la prova è data dal riscontro epidemiologico di dosi tanto basse da non essere dimostrabili e definibili con i comuni strumenti di misurazione nei soggetti malati. Inoltre non esiste, come invece accade per gli altri tumori derivanti dall'esposizione ad agenti cancerogeni, un livello di esposizione al di sotto del quale l'effetto cancerogeno non è più epidemiologicamente dimostrabile: nel mesotelioma l'esperienza dei Registri e la letteratura hanno messo in evidenza casi che presentavano dosi talmente basse da essere sovrapponibili alle dosi esistenti nell'ambiente di vita. La microscopia elettronica ha evidenziato che nei casi di mesotelioma la quantità di fibre per unità di peso può essere altissima, alta, media o tanto bassa da coincidere con quella ritrovabile nell'adulto esposto soltanto all'inquinamento urbano.

Le osservazioni, poi, di frequenti casi comparsi tra consanguinei, nonostante la diversa entità di esposizione, sembra avvalorare l'ipotesi di una trasmissione genetica della ipersuscettibilità, confermando il modello autosomico dominante.

L'amianto infine ha un'altra caratteristica che lo differenzia dagli altri cancerogeni: la durata del processo patogenetico o *periodo di latenza* (Bianchi C et al., 1997) nel soggetto suscettibile sarà certamente diversa da soggetto a soggetto ma dipenderà solo dalle caratteristiche difensive di ciascun singolo organismo contro l'agente persistente e non dalla entità della dose inalata. In ogni caso la latenza dall'inizio dell'esposizione alla diagnosi si aggira tra i 25-40 anni.

Non va infine dimenticato il ruolo di un altro cofattore, l'infezione da virus vacuolare della scimmia detto simian virus 40 (SV40). A carico di questa ipotesi negli ultimi anni sono state raccolte numerose prove, a partire da dati di natura epidemiologica, fino a dati sul meccanismo oncogenetico.

SV40 è un virus appartenente al genere Polyomavirus, della famiglia dei Papovaviridae. Si tratta di un virus privo di pericapside a DNA a doppia elica, inclusa in un capsido icosaedrico del diametro variabile di 40-50 nm. L'ospite naturale del virus è rappresentato da alcune specie di scimmie (Rhesus macacus ed altre specie ad essa correlate). Come sia iniziato il passaggio nella specie umana è ancora oggi un mistero, anche se l'ipotesi più accreditata è quella della sua iniziale diffusione attraverso la somministrazione (dal 1955 al 1974) di vaccini antipolio contaminati, perché prodotti a partire da colture di cellule renali di scimmia infette. Essendo stato riscontrato DNA del virus anche in alcuni liquidi biologici come le feci e lo sperma, non si può escludere che una volta penetrato nel genere umano si sia diffuso anche attraverso una via di trasmissione orizzontale. Il virus è stato progressivamente accreditato come un potenziale concancerogeno dell'amianto sin dalla metà degli anni '90, quando prima Carbone et al. su pazienti americani e poi Cristaudo et al. su pazienti italiani riscontrarono la presenza di sequenze di DNA del tutto simili a quelle di SV40 in una elevata percentuale di campioni di mesotelioma maligno (circa il 65%).

Cristaudo et al. hanno recentemente condotto uno studio sul tema dell'interazione tra SV40 ed amianto nella patogenesi del mesotelioma maligno, impiegando un approccio di epidemiologia biomolecolare. È stato disegnato uno studio caso-controllo (casi = pazienti con mesotelioma maligno e controlli = pazienti con tumore della vescica) definendo l'esposizione ad SV40 sulla base del riscontro nei campioni di tessuto tumorale di sequenze specifiche di SV40 incluse nella cosiddetta regione regolatrice. I risultati hanno sorprendentemente messo in luce che la positività ad SV40 incrementava il rischio di sviluppare il mesotelioma maligno nei soggetti ex esposti ad amianto di più di quattro volte (Cristaudo et al. , Cancer Research 2005).

1.5 Patologie correlate all' amianto.

L'inalazione di fibre di amianto determina sull'apparato respiratorio reazioni fibrose diffuse e irreversibili a carico dell'interstizio polmonare e/o delle pleure fino allo sviluppo di neoplasie maligne del polmone e delle stesse pleure.

Attualmente le principali patologie legate all'asbesto sono:

- Asbestosi
- Placche pleuriche
- Carcinoma polmonare
- Mesotelioma maligno
- Versamenti pleurici
- Atelettasia rotonda

Oltre a queste malattie principali ne esistono altre di minore rilevanza che possono non colpire direttamente l'apparato respiratorio, ma della quali alcuni autori ammettono la correlazione con una precedente esposizione all'amianto e come le altre si manifestano dopo un lungo periodo di latenza

Numerosi studi hanno, infatti, dimostrato che la mortalità per tumori in genere è più alta nei lavoratori esposti a polveri libere di asbesto che nella popolazione generale, e in particolare sembrano più frequenti i tumori del tratto gastro-intestinale e della laringe. L'aumento della frequenza per queste malattie è comunque molto inferiore rispetto a quello descritto per i tumori polmonari ed è ancora oggi oggetto di studi per una migliore comprensione dei meccanismi che lo determinano. Si manifestano con compromissione dello stato generale di salute, da disturbi della funzione stessa degli organi colpiti e da segni di compressione degli organi adiacenti. Altri disturbi possono dipendere da localizzazioni metastatiche. Il decorso è progressivo: molte forme iniziali

possono essere aggredite chirurgicamente ed eventualmente si possono praticare terapie radianti o farmacologiche.

1) Asbestosi

È una malattia respiratoria cronica legata alle proprietà fibrogeniche delle fibre di asbesto sul tessuto polmonare; ne conseguono irrigidimento e perdita della capacità funzionale. Le fibre di asbesto penetrano con l'aria attraverso la bocca ed il naso, procedendo poi lungo la faringe, la laringe, la trachea e i bronchi fino ad arrivare agli alveoli polmonari. Qui l'aria giunge a stretto contatto con il sangue e, attraverso una sottilissima membrana, cede ossigeno e assorbe anidride carbonica. La superficie totale di scambio è molto estesa e può essere alterata dall'inalazione di polveri non inerti, fra cui la silice e l'asbesto.

Le vie respiratorie possono ostacolare la penetrazione di particelle che abbiano un diametro maggiore di cinque millesimi di millimetro, in quanto sono dotate di ciglia sottilissime e capaci di una continua produzione di muco: le particelle vengono così bloccate e poi, con movimenti regolari o con colpi di tosse, espulse. Molti studi hanno dimostrato che la pericolosità delle fibre di asbesto è legata al diametro molto piccolo e a una lunghezza superiore a cinque millesimi di millimetro. È stato dimostrato che una parte dell'asbesto che viene respirato non riesce ad essere espulsa e resta negli alveoli dove provoca una irritazione (alveolite): sembra che questo sia il primo passo per l'instaurarsi di lesioni cicatriziali e quindi di una vera e propria asbestosi. La quantità di asbesto che resta intrappolata nei polmoni è legata alla quantità totale di asbesto inalato, e dunque all'intensità e alla durata dell'esposizione: l'asbestosi è pertanto una malattia in cui esiste una stretta relazione fra "dose" di asbesto inalata e "risposta" dell'organismo, quindi tipica di una esposizione professionale

La crocidolite ha una pericolosità maggiore degli altri tipi di asbesto, forse per la maggiore rigidità delle sue fibre e dunque per motivi aerodinamici, o forse per le sue caratteristiche ultramicroscopiche, essendo ogni fibra costituita da un elevatissimo numero di microfibrille. I sintomi dell'asbestosi sono simili a quelli delle altre malattie respiratorie croniche in cui si hanno alterazioni nella distribuzione di ventilazione e perfusione: l'affanno, prima da sforzo e poi anche a riposo, la tosse, che spesso è di tipo secco, la debolezza dovuta alla riduzione della quantità di ossigeno che dagli alveoli passa al sangue.

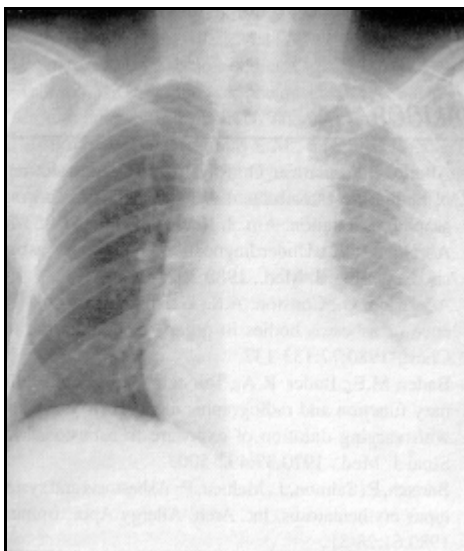


Fig.3. quadro radiografico di asbestosi

Morfologia: l'asbestosi è una fibrosi interstiziale polmonare diffusa caratterizzata dalla presenza dei cosiddetti *corpuscoli dell'asbesto*, costituiti da fibre di asbesto rivestite da materiale proteico contenente ferro, di colore brunastro dorato e forma fusata o a “bacchetta di tamburo”, con un centro translucido. Compaiono quando i macrofagi tentano di fagocitare le fibre di asbesto e il ferro deriva, presumibilmente, dalla ferritina dei fagociti stessi. Altre particelle inorganiche possono avere un rivestimento simile, costituito da complessi ferro-proteici, ma, in questi casi in cui non è evidente un nucleo centrale di asbesto, è più

appropriato utilizzare il termine di “ corpi ferruginosi”. Bisogna tenere presente che i corpi dell’asbesto possono talvolta essere presenti nei polmoni di persone normali ma, in genere, assai meno numerosi e senza la fibrosi interstiziale di accompagnamento. L’esordio della asbestosi è caratterizzato dalla presenza di una fibrosi peri-bronchiale che va man mano a coinvolgere i tessuti che circondano i dotti alveolari, i sacchi alveolari e gli alveoli adiacenti. Il tessuto fibroso distorce l’architettura primitiva, creando spazi aerei dilatati e circondati da spesse pareti fibrose; alla fine, le regioni colpite assumono l’aspetto a favo d’api. L’asbestosi interessa dapprima il lobo inferiore e le regioni subpleuriche, ma progressivamente la fibrosi si estende ai lobi polmonari medio e superiore. Contemporaneamente, la pleura viscerale va incontro ad ispessimento fibroso e si creano aderenze fra i polmoni e la pleura toracica. Il processo di cicatrizzazione può coinvolgere le arterie polmonari e le arteriole, stenosandole, e causando ipertensione e cuore polmonare.

La diagnosi si basa innanzitutto sui sintomi riferiti dal lavoratore, sull’auscultazione del torace, che può mettere in evidenza rumori patologici alle basi polmonari, sugli accertamenti radiografici, che possono mostrare la presenza di opacità irregolari ed infine il caratteristico quadro finale di fibrosi a favo d’api, e sulle prove di Ilo frafunzionalità respiratoria, con cui si rileva un deficit di tipo restrittivo.

L’intervallo tra l’inizio dell’esposizione e lo sviluppo dei sintomi respiratori legati a patologie amianto correlate benigne è di solito di 20 anni, con una variabilità dipendente dalla intensità della esposizione. Il decorso della malattia è molto variabile e, in tempi più o meno lunghi, porta ad un aggravamento dei disturbi respiratori, accompagnato da un ingrandimento e da una maggiore diffusione delle opacità radiologiche, e da un progressivo aumento del deficit funzionale. Nel corso degli anni si

può giungere a quadri di insufficienza respiratoria gravissimi e infine mortali. La malattia può inoltre essere complicata da infezioni, da germi comuni o tubercolari; inoltre in polmoni asbestotici, è più facile l'insorgenza anche di tumori polmonari e mesoteliomi pleurici.

Non esiste una terapia specifica per l'asbestosi e non è possibile pertanto una guarigione delle lesioni polmonari: la terapia è essenzialmente mirata a ostacolare le complicanze infettive e a migliorare, nei limiti del possibile, le capacità respiratorie.

2) Placche fibrose localizzate o, raramente, fibrosi pleurica diffusa: le placche pleuriche rappresentano la manifestazione più comune dell'esposizione all'amianto e sono costituite da aree di tessuto collagene denso, spesso calcifico. Si sviluppano più frequentemente sulle superfici anteriori e postero-laterali della pleura parietale e sulle cupole diaframmatiche. Le placche non contengono corpi dell'asbesto e, solo raramente, si riscontrano in persone che non hanno una storia di esposizione all'amianto. Possono verificarsi anche versamenti pleurici, in genere sierosi, ma talora ematici. Raramente, si giunge alla fibrosi diffusa della pleura viscerale e, negli stadi avanzati, si sviluppa fibrotorace. Alcuni recenti studi hanno evidenziato come anche le placche pleuriche costituiscano fattori di rischio aggiuntivo per MM.

3) Carcinoma polmonare

Il carcinoma polmonare è il tumore maligno più frequente e rappresenta la prima causa di morte per cancro nei paesi industrializzati. Come per l'asbestosi anche per i carcinomi polmonari è stata riscontrata una stretta relazione con la quantità totale di asbesto inalata.

Altro fattore di rischio fondamentale è il fumo di tabacco. L'incidenza di questo tumore nei non fumatori non esposti ad asbesto è risultato di 11 su 100.000 persone l'anno; nei non fumatori esposti ad asbesto è risultato circa 5 volte superiore; nei fumatori che non sono esposti ad asbesto è circa 10 volte superiore, ed è addirittura oltre 50 volte superiore nei fumatori che sono anche esposti ad asbesto. L'eliminazione almeno del fumo è quindi in grado di contribuire a ridurre la probabilità di contrarre tumori polmonari anche in lavoratori che sono stati esposti ad asbesto.

I sintomi possono essere molto diversi e spesso aspecifici per lo più, tosse con catarro, affanno, dimagrimento, compromissione grave delle condizioni generali.

La diagnosi è principalmente radiografica e può essere completata dall'esame microscopico dell'espettorato e da altri accertamenti strumentali.

Il decorso è caratterizzato da un progressivo deterioramento delle condizioni di salute e della possibilità di ulteriori disturbi legati a localizzazioni metastatiche in altri organi. Per alcuni tumori più piccoli e in fase iniziale si può tentare un'asportazione chirurgica radicale, ma i risultati sono spesso insoddisfacenti. Anche l'efficacia di trattamenti farmacologici e radianti è purtroppo, a tutt'oggi, molto relativa.

4) Versamenti pleurici: Si distinguono in trasudati ed essudati; i trasudati sono dovuti all'aumento della pressione microvascolare o alla riduzione della pressione oncotica; gli essudati sono dovuti a infiammazione della pleura (pleurite), con un aumento della permeabilità della superficie pleurica. Il sottile strato di liquido contenuto in cavità pleurica (10-20 ml) ha una composizione simile al plasma ad eccezione di una minore concentrazione di proteine ($< 1,5$ g/dl), entra dai capillari pleurici ed esce

dagli orifizi della pleura parietale e dai vasi linfatici. L'ostruzione dei vasi linfatici può anche contribuire all'accumulo del liquido pleurico. Nel 3% circa dei lavoratori esposti all'asbesto dopo un periodo di latenza che varia da 5 a più di 30 anni compare un versamento pleurico benigno di solito unilaterale, modesto e di tipo essudativo. La conta dei WBC può raggiungere i 25000/ml, con una conta differenziale variabile e molti eosinofili. I pazienti possono essere asintomatici o accusare dolore toracico.

La diagnosi è posta per esclusione, particolarmente nei confronti del mesotelioma e del carcinoma metastatico.

5) atelettasia rotonda: è una lesione benigna che si localizza nel parenchima polmonare sottopleurico con aspetto nodulare all' esame radiologico. Si può associare all'esposizione all'amianto quando in seguito a ricorrenti versamenti pleurici benigni la pleura viscerale va incontro a invaginazione provocando il collasso del parenchima circostante; oppure origina da aree di fibrosi pleurica che esercitano una trazione sul parenchima polmonare vicino.

1.6 Il mesotelioma pleurico

Anatomia patologica

Il mesotelioma maligno della pleura è una lesione che inizialmente si localizza nei segmenti pleurici basali e dorsali (probabilmente per motivi di declività), poi diventa rapidamente diffusa coinvolgendo ampiamente gli spazi pleurici ed associandosi, in genere, ad un cospicuo versamento nonché alla invasione diretta delle strutture toraciche. Il polmone colpito viene permeato e circondato da uno spesso strato di tessuto neoplastico gelatinoso e di colore grigio-rossastro

Classificazione istopatologica: Le cellule mesoteliali hanno la capacità potenziale di differenziarsi sia come cellule stromali di tipo mesenchimale, che come cellule epitelio-simili che rivestono le cavità sierose del corpo. In base alla prevalenza del tipo di cellule in cui il mesotelio si è differenziato si distinguono tre tipi di mesotelioma:

- Sarcomatoide 18%
- Epitelioido 67%
- Misto (con aspetti sia epitelioidi che sarcomatoidi) 15%

Il tipo mesenchimale o **sarcomatoide** ricorda un sarcoma fusocellulare ed, in particolare, il fibrosarcoma, mentre il tipo papillare o **epiteliomorfo** è costituito da cellule cuboidali o cilindriche o appiattite, che formano strutture papillari e tubulari simili a quelle di un adenocarcinoma (Fig.4)

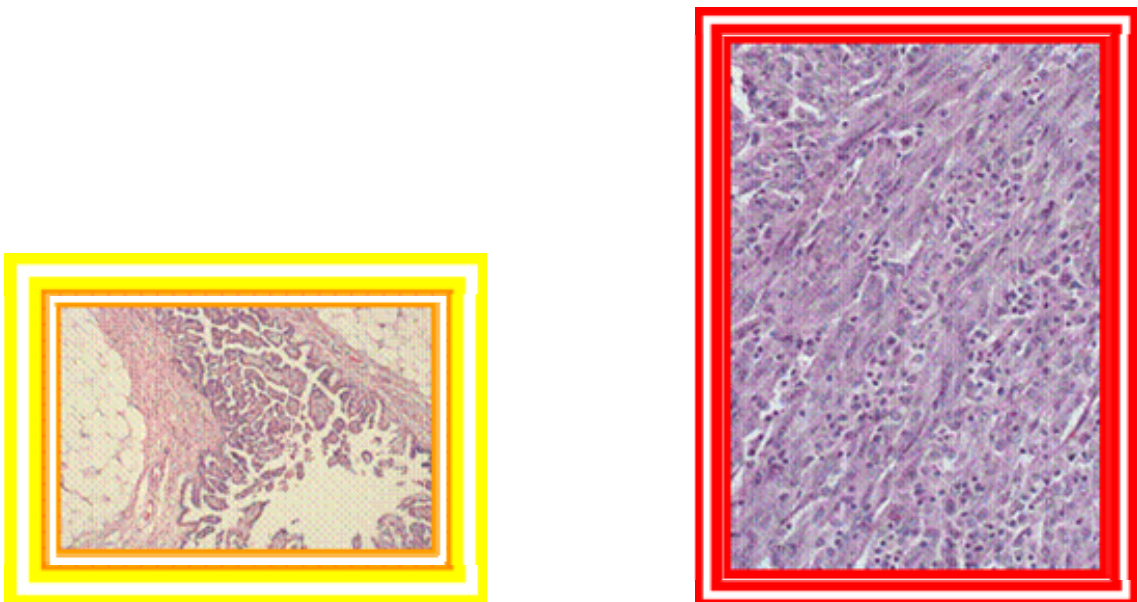


Fig.4. mesotelioma epiteliomorfo e sarcomatoide.

Talvolta, pertanto, può essere molto difficile differenziare un mesotelioma epiteliomorfo da un adenocarcinoma polmonare. Depongono a favore del primo i seguenti fattori: (1) positività delle colorazioni per i mucopolisaccaridi acidi, inibita da una precedente

digestione con ialuronidasi, (2) negatività della colorazione immunoistochimica per l'antigene carcinoembrionario CEA e per altri antigeni associati a glicoproteine epiteliali, markers generalmente espressi dall'adenocarcinoma; (3) forte positività per la presenza delle citocheratine, con rinforzo della colorazione in sede perinucleare più che alla periferia cellulare; positività per la mesotelina (4); presenza, alla microscopia elettronica, di lunghi microvilli ed abbondanti tonofilamenti, ma assenza di ciglia o di corpi lamellari. Anomalie citogenetiche sono presenti nei mesoteliomi ma non nelle cellule mesoteliali reattive costituendo una caratteristica utile per la diagnosi (Robbins e Cotran, 2006).

Epidemiologia. L'esistenza di un rapporto causale tra esposizione ad amianto ed insorgenza di mesoteliomi pleurici venne accertata per la prima volta con lo studio epidemiologico di Wagner, relativo ai minatori della crocidolite del Sud Africa (Wagner et al., 1960). Da allora, a tale riguardo, si è via via andata accumulando una mole enorme di dati concordanti che ha portato a sostanziali certezze, pur lasciando tuttora aperte alcune questioni (vedasi il ruolo delle fibre ultrafini).

Vi sono in ogni caso buone evidenze del fatto che in una popolazione di esposti all'amianto globalmente inteso (compreso quindi il crisotilo), con il crescere (in termini di intensità e/o durata) delle dosi di esposizione si determinano un incremento dose-correlato della incidenza di mesoteliomi pleurici ed una riduzione degli intervalli medi di induzione-latenza, seppur ancora piuttosto lunghi (Rogers A J, 1991; Pots F, 1989).

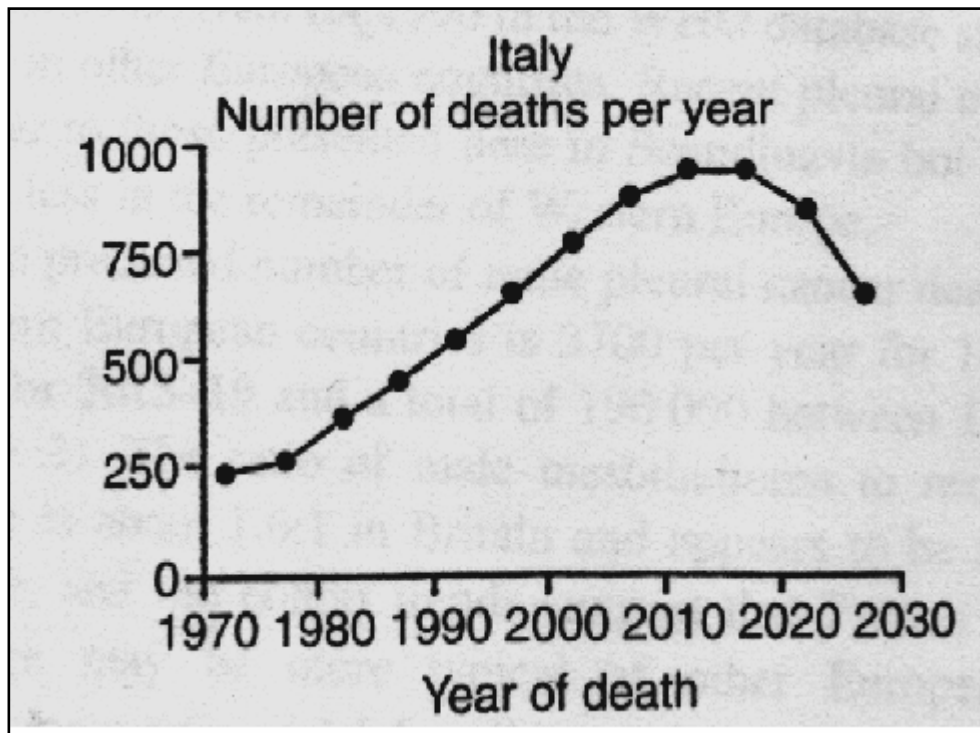
Resta ancor oggi valida la considerazione che, per la maggior parte, i mesoteliomi pleurici sono una patologia da esposizione ad amianto "elevata" o "di media entità", "di tipo professionale"; sono peraltro sempre

più frequenti in letteratura le segnalazioni di casi singoli e concentrazioni epidemiche di mesoteliomi pleurici da esposizioni “basse” o “bassissime” verificatesi in soggetti non professionalmente esposti all’amianto ma conviventi con soggetti professionalmente esposti all’amianto e/o residenti in zone ad intenso inquinamento ambientale da amianto.

Attualmente, i dati statistici raccolti in vari Paesi mostrano tassi di incidenza annuale variabili da 1 a 10 casi per milione di abitanti (Ottenga F, 2005). Più nello specifico, il dato per la regione Toscana (Gorini G, 2005) indica un’incidenza annuale per milione di abitanti variabile da 9,5 per il periodo 1988-1993 a 22,5 per il periodo 1988-2000, fino a 18,7 per il triennio 2001-2003. Inoltre dal 1988 al 2004 sono stati registrati dal CSPO 772 casi di mesotelioma maligno di provenienza regionale di cui 392 tra i residenti della sola Area Vasta Nord Ovest, area dove è presente la più alta concentrazione di cantieristica navale. La patologia si è dimostrata avere una maggiore prevalenza nei maschi con un rapporto di circa 5:1 rispetto alle femmine. E’ stato evidenziato inoltre un trend in aumento di casi incidenti dal 1998 al 2000, seguito successivamente da una flessione abbastanza evidente negli ultimi quattro anni per la sola Area vasta Nord Ovest, da ricondurre presumibilmente al minor gettito di casi dai settori produttivi tradizionalmente a maggior rischio (Pinelli M, Chellini E et al. UO Epidemiologia Ambientale Occupazionale - CSPO, Istituto Scientifico Prevenzione Oncologica, Firenze).

Le previsioni epidemiologiche più accreditate indicano che il picco di mortalità sarà raggiunto in Europa attorno al 2020. Tale previsione è stata formulata sulla base del fatto che l’uso di amianto nei Paesi europei è stato massimo attorno al 1970; in base a questo dato, ed alla lunga latenza della malattia, la classe di lavoratori più a rischio è quella nata tra il 1945 ed 1950, in quanto ha iniziato la propria vita lavorativa proprio in prossimità del periodo di massimo impiego dell’asbesto. Inoltre le

lavorazioni di demolizione o restauro edile potrebbero essere stata una forma di esposizione ad amianto per molti anni a seguire, se effettuate senza le dovute precauzioni. In termini numerici, si stima che nel prossimo trentennio 250000 persone moriranno per MM in Europa Occidentale, con una prevedibile “onda lunga”, per le ragioni sopra esposte, dopo il picco di mortalità stimato per il 2020 (Peto J,1999).



Manifestazioni cliniche

La sintomatologia iniziale è subdola e poco specifica rappresentata nel 90% dei casi da dolore toracico e dispnea presenti singolarmente o insieme. Il dolore non ha le caratteristiche del dolore pleuritico, è persistente, progressivo, indipendente dagli atti respiratori, localizzato ad un emitorace e resistente agli antidolorifici. La dispnea è dovuta alla presenza di versamento pleurico che riduce il volume polmonare con sbandamento mediastinico controlaterale o all’incarceramento del polmone da parte della neoplasia stessa che riduce la ventilazione. Oltre

a questi sintomi cardine si possono associare in vario grado altri segni quali la tosse, la febbre e l'astenia comuni alle altre neoplasie maligne.

Nelle rare forme solitarie i primi sintomi a comparire, dopo una lunga fase asintomatica, sono dolore e senso di peso dovuti ad un aumento di volume che provoca disturbi da compressione. Nelle fasi iniziali sono frequenti sindromi paraneoplastiche quali *osteopatia ipertrofizzante pneumica*, *piastrinosi*, ipoglicemia.

Anche le forme diffuse sono silenti per un lungo periodo di tempo. Con il progredire della malattia compaiono dolore toracico (spesso a fascia con irradiazione posteriore), dispnea prima da sforzo e poi anche a riposo, tosse, febbre, calo ponderale e versamento pleurico emorragico libero o saccato. Nelle fasi avanzate si può avere interessamento mediastinico con paralisi delle corde vocali, sindrome di Horner e compressione delle vene cave.

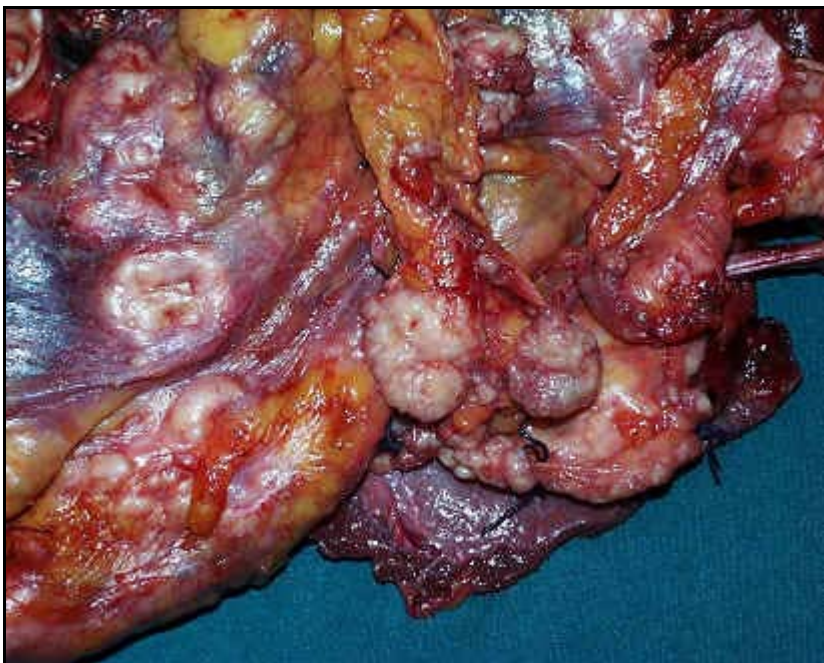


Fig.4. granulazioni neoplastiche di mesotelioma diffuso.

Diagnosi

La diagnostica odierna si basa fundamentalmente su un primo livello clinico (anamnesi e esame obiettivo) corredato con tecniche di imaging (esame radiologico del torace, TAC ad alta risoluzione, PET, studio ecografico); un secondo livello rappresentato dalla citologia (toracentesi diagnostica con esame citologico e immuno-cito-chimico del liquido pleurico); un terzo livello, l'unico che può fare una diagnosi di certezza, basato sull'esame istologico (video-toracoscopia con biopsia, toracoscopia chirurgica, esame autoptico).

L'esame obiettivo può svelare ottusità e ridotta mobilità dell'emittoace interessato, assenza di fremito vocale tattile e rumore respiratorio normale ridotto o assente soprattutto nei campi inferiori e medi.

La radiografia del torace mostrerà nelle fasi iniziali la presenza del versamento mentre nelle fasi più avanzate la retrazione dell'emittoace e talora un ispessimento lobulato della pleura. Nonostante l'esposizione all'asbesto possa essere rilevata nel 70% dei casi all'RX, solo in un 20% è possibile reperire placche pleuriche calcifiche o segni di interstiziopatia. L'emittoace destro è coinvolto in circa il 60% dei casi mentre l'interessamento bilaterale al momento della diagnosi avviene in meno del 5% dei pazienti.



Fig 5. RX del torace in proiezione AP di MPM.

Alla TC i caratteri più significativi per la diagnosi di mesotelioma sono ritenuti: l'ispessimento pleurico > 1 cm, l'ispessimento circonferenziale della pleura ("pleural rind"), l'interessamento della pleura mediastinica, il margine interno lobulato o plurinodulare, il margine esterno irregolare, l'infiltrazione del mediastino, l'infiltrazione del pericardio. Questi segni sono comuni alle pleuropatie maligne secondarie. Altri caratteri che si possono riscontrare alla TC sono il versamento pleurico e le calcificazioni che però non distinguono la patologia benigna dalla maligna. Nei casi dubbi può essere utile la RM che può dimostrare un'iperintensità di segnale dell'ispessimento pleurico nelle sequenze dipendenti dal T2, al contrario di quanto accade negli ispessimenti fibrosi che sono ipo-isointensi rispetto alle strutture muscolari. La TC e la RM hanno entrambe una limitata utilità nella stadiazione del mesotelioma (accuratezza diagnostica intorno al 50-65%); la RMN risulta lievemente superiore per la valutazione dell'infiltrazione del diaframma e della fascia endotoracica.

Negli ultimi anni la diagnostica della patologia pleurica primitiva si avvale, sempre più di frequente, dello studio ecografico. L'ecografia permette una valutazione accurata dei versamenti e delle alterazioni anatomiche a carico dei foglietti pleurici ed è una guida indispensabile per tutte le manovre invasive.

Importante è poi il ruolo della PET con flurodesossiglucosio che ha superiore accuratezza nella stadiazione (soprattutto per quanto concerne il fattore N), è in grado di differenziare meglio rispetto alla TC e alla RM le patologie benigne dalle maligne, permette di indirizzare i prelievi toracoscopici sulle aree metabolicamente più attive e, nella fase post-trattamento, valuta più concretamente la risposta alla terapia.(F. Falaschi, 2005; A. Chella, 2005.)

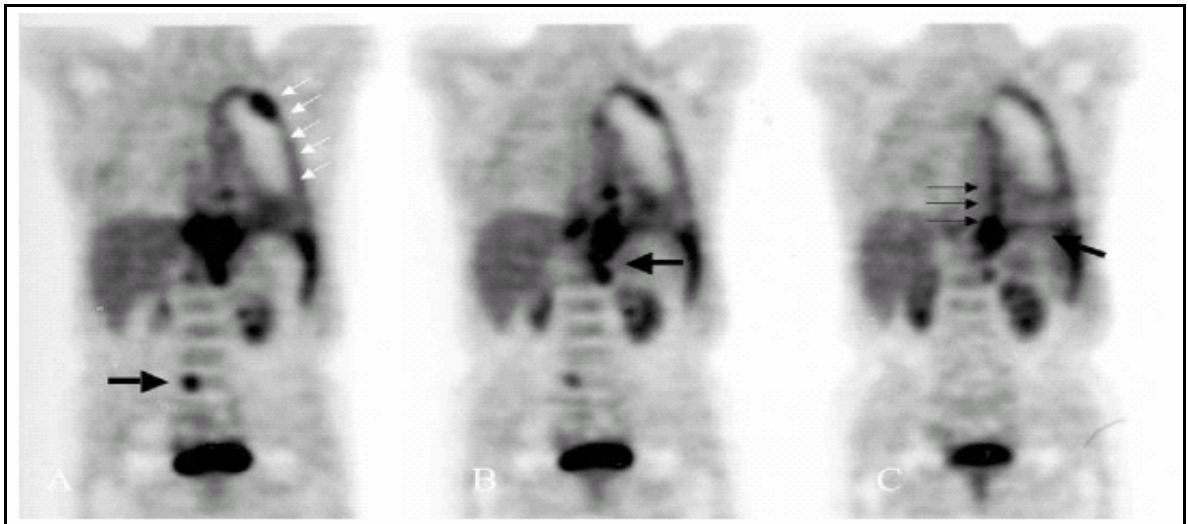


Fig 5: Immagine PET di un mesotelioma diffuso

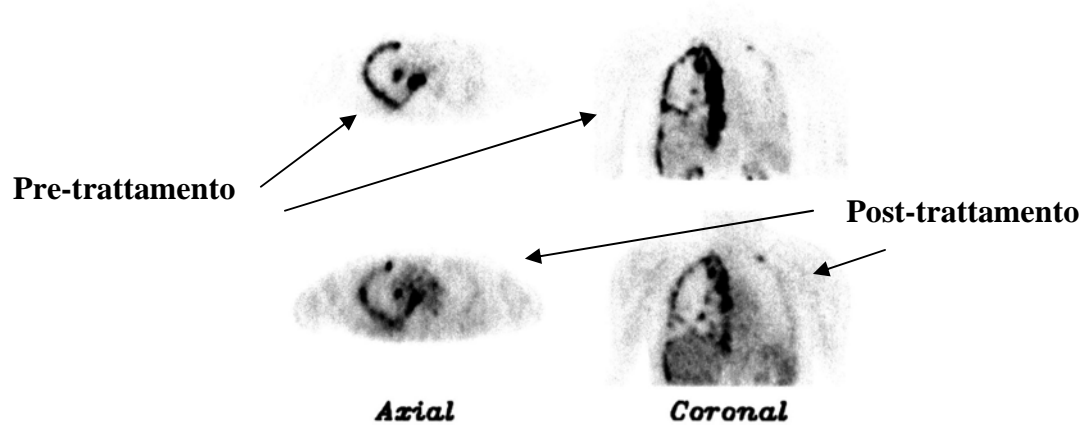


Fig 5: Immagini PET ottenute prima e dopo terapia di un mesotelioma

Un'altra indagine la cui certezza diagnostica è discreta ma non assoluta è l'esame citologico del versamento pleurico ottenuto con la toracentesi. Esso mostra cellule, isolate o aggregate in morule, con caratteri neoplastici (eventualmente in associazione a cellule mesoteliali "attivate" o a cellule di "iperplasia mesoteliale atipica"), ma può risultare negativo nelle forme sarcomatoidi.

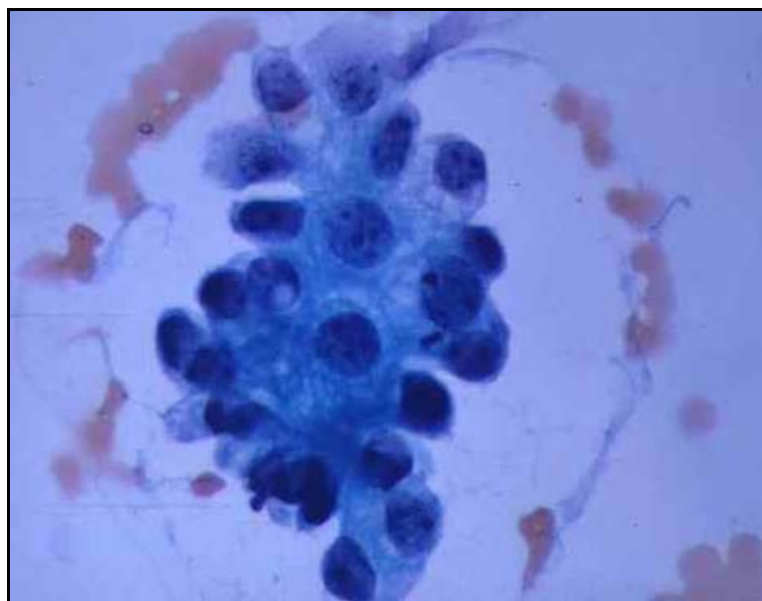


Fig 6. Citologia del liquido peritoneale

Le indagini immuno-citochimiche condotte sulle cellule sospette aumentano in misura considerevole l'affidabilità della diagnosi citologica di mesotelioma, differenziando con elevato grado di certezza le cellule di origine mesoteliale da quelle di diversa istogenesi, anche se possono rimanere dubbi rispetto ad ipotesi alternative di una “attivazione mesoteliale” tipica ma particolarmente vivace e soprattutto di una “iperplasia mesoteliale atipica”. Per questo motivo il gold standard per la diagnosi di mesotelioma maligno rimane l'esame istologico da effettuarsi su materiale biotico.

Il materiale istologico pleurico può essere ottenuto o per via trans-parietale con ago sottile (FNA – fine needle ago-biopsy), o con la toracosopia che fornisce materiale sicuramente più abbondante e mirato. La toracosopia medica, meno invasiva e costosa di quella chirurgica, è eseguibile in sala di endoscopia in anestesia locale e blanda sedazione, con strumentario sterilizzabile. Con la visione diretta dei polmoni permette sia di distinguere due forme macroscopiche di mesotelioma (quella diffusa, più frequente, con noduli grigiastri o biancastri mal definibili su una pleura diffusamente ispessita e quella

circoscritta, più rara, sotto forma di una massa pleurica localizzata) che di eseguire biopsie plurime sulla pleura parietale e se muniti di pinze con coagulazione bipolare anche su quella viscerale. Per tutte queste caratteristiche la toracosopia è oggi da considerare come lo strumento di elezione per la diagnosi istologica di mesotelioma pleurico.

Il ricorso alla toracosopia chirurgica (VATS) si rende indispensabile sia quando RX, TC e ECO abbiano messo in evidenza la presenza di ampie aderenze che richiedano la lisi per poter svolgere una efficace manovra diagnostica, che quando la TC ha segnalato la presenza di adenopatie mediastiniche di cui si voglia accertare la natura mediante prelievo biottico. Più complessa nello svolgimento, richiede l'esecuzione in sala operatoria, l'anestesia generale e diversi tremiti di accesso.

Ovviamente, il materiale istologico assumibile in corso di intervento chirurgico o di riscontro diagnostico può essere ancor più abbondante e "mirato" di quello fornito da una toracosopia ed è perciò di primario interesse per un corretto inquadramento nosografico di un mesotelioma pleurico. Nella maggior parte dei casi un patologo esperto può giungere a una diagnosi di sostanziale certezza, nel senso di un mesotelioma o di una sua esclusione, sulla base di preparati di buona qualità colorati con la classica metodica ematossilina-eosina.

Per ulteriori certezze nella diagnosi di mesotelioma pleurico si ricorre all'indagine immuno-isto/citochimica che è affidabile e facilmente ripetibile; disponendo di materiale quantitativamente sufficiente, ben fissato e ben conservato è possibile, inoltre, procedere (esattamente come per la cito- ed isto-morfologia) a controlli dei risultati dubbi o spuri anche presso laboratori diversi e/o a distanza di tempo dall'accertamento diagnostico iniziale.

Sulla base dei protocolli attualmente più diffusi, il pattern immuno-cito/istochimico "tipico" e "completo" delle cellule mesoteliomatose

epiteliomorfe (maggiormente diagnostiche) può essere schematizzato come segue:

vimentina: positivo; *pan-citokeratina*: positivo; *citokeratina n. 7*: positivo; *EMA*: positivo (con marcatura soltanto di membrana); *CEA*: negativo; *TAG B72.3*: negativo; *ESA (BER-EP4)*: negativo; *calretinina*: positivo.

Rispetto a tale protocollo di indagine, il pattern immuno-cito/istochimico “tipico” e “completo” delle cellule di un adenocarcinoma primitivamente polmonare, che sono ovviamente di origine epiteliale, è in certa misura speculare a quello delle cellule mesoteliomatose epiteliomorfe e può essere riassunto come segue:

vimentina: negativo; *pan-citokeratina*: positivo; *citokeratina n. 7*: negativo; *EMA*: positivo (con marcatura sia citoplasmatica sia anche di membrana); *CEA*: positivo; *TAG B72.3*: positivo; *ESA (BER-EP4)*: positivo; *calretinina*: negativo.

Pertanto, dovendo eseguire una diagnosi differenziale tra le due patologie, è utile considerare le differenti risposte immuno-cito/istochimiche riassunte nella tabella seguente (tab.n° 2):

Marcatore	Mesotelioma	Adenocarcinoma
Pan-citokeratina	+	+
Citokeratina n. 7	+	-
EMA	+ (marcatura solo di membrana)	+ (marcatura sia del citoplasma che di membrana)
TAG B72.3	-	+
CEA	-	+
ESA (BER-EP4)	-	+
Calretinina	+	-
Vimentina	+	- (+ nei carcinomi Sarcomatoidi)
HBME-1	+	-
Citokeratina 5-6	+	-
Trombomodulina	+	-

Tab. n 2 Anticorpi utili nella diagnosi differenziale tra Mesotelioma e Adenocarcinoma.

L'assenza di una o due delle positività caratteristiche delle cellule di origine mesoteliale (ad esempio, per la vimentina o la calretinina) non inficia una diagnosi di mesotelioma se vi è buona coerenza del quadro complessivo; si tratta di cellule neoplastiche ed un certo grado di scostamento dalla norma, nel senso di una loro "minor differenziazione" non può certo sconcertare. D'altra parte, anche una sola positività anomala (ad esempio, per il CEA o il TAG B72.3) non riconducibile ad errore tecnico è sufficiente ad inficiare una diagnosi di mesotelioma, rimandando in genere all'ipotesi alternativa di un adenocarcinoma polmonare invadente la pleura. Considerazioni speculari valgono ovviamente se l'ipotesi in studio è quella di un adenocarcinoma e l'ipotesi alternativa quella di un mesotelioma.

Si tenga presente che il rilievo contemporaneo di positività reciprocamente incompatibili (ad esempio, per calretinina e TAG B72.3) inevitabilmente evoca un errore tecnico ed impone una indagine di controllo.

In ogni caso, il rilievo di un pattern immuno-isto/citochimico tipico e completo per il mesotelioma (così come, in alternativa, per l'adenocarcinoma) abolisce qualsiasi ragionevole dubbio diagnostico residuo ad un esame isto-morfologico.

Nei non frequenti casi in cui le alternative diagnostiche si pongano tra il mesotelioma da un lato e una neoplasia tiroidea, mammaria o uterina dall'altro, possono essere utilizzati altri marker immuno-isto/citochimici, soprattutto riferiti ai pattern ormonali e recettoriali dei tessuti normali tiroidei, mammari ed uterini. Anche in tal caso, il rilievo di un pattern tipico e completo è dirimente al di là di ogni ragionevole dubbio; incertezze possono residuare soltanto in presenza di pattern largamente incompleti o spuri.

Diagnosi differenziale

- Carcinoma broncopolmonare: emottisi, positività radiologica, mancata compromissione pleurica.
- Pleurite acuta infiammatoria: insorgenza improvvisa, risoluzione del dolore e della dispnea dopo toracentesi. L'esame citologico dell'espettorato è dirimente.
- Metastasi pleuriche: la dimostrazione del tumore primitivo e le caratteristiche citologiche del liquido possono essere utili. La biopsia pleurica è dirimente.

Classificazione e stadiazione

Sistema di classificazione TNM

<i>T-Tumore primitivo</i>
Tx Il tumore primitivo non può essere definito
T0 Nessuna evidenza di tumore primitivo
T1 Tumore limitato alla pleura parietale e/o viscerale omolaterale
T2 Tumore che invade una o più delle seguenti strutture: polmone, fascia endotoracica, diaframma o pericardio omolaterali
T3 Tumore che invade una o più delle seguenti strutture: muscolatura della parete toracica, costole, organi o tessuti del mediastino omolaterali
T4 Tumore esteso direttamente a una o più delle seguenti strutture: pleura controlaterale, polmone, peritoneo, organi intra-addominali o tessuti cervicali.
<i>N-Linfonodi</i>
Nx I linfonodi regionali non sono definibili

N0 Non metastasi nei linfonodi regionali
N1 Metastasi ai linfonodi peribronchiali o ilari omolaterali, compresa l'estensione diretta
N2 Metastasi ai linfonodi mediastinici e/o sottocarenali omolaterali
N3 Metastasi mediastiniche controlaterali, ilari controlaterali, scaleniche omo e controlaterali oppure ai linfonodi sovraclaveari
<i>M-Metastasi</i>
Mx Metastasi a distanza non accertabili
M0 Non evidenza di metastasi a distanza
M1 Presenza di metastasi a distanza

Stadiazione

<i>Stadio</i>	<i>Descrizione</i>
I	Tumore confinato entro la capsula della pleura parietale (coinvolge solo la pleura omolaterale, il polmone, il diaframma, la superficie esterna del pericardio entro il ripiegamento della pleura)
II	Tumore che invade la parete toracica, mediastino con relative strutture (esofago, trachea, grandi vasi). Linfonodi intratoracici invasi
III	Tumore che, infiltrando il diaframma, interessa il peritoneo e/o gli spazi retroperitoneali. Tumore che, infiltrando il pericardio, interessa il suo foglietto viscerale o il muscolo cardiaco. Interessamento della pleura controlaterale. Linfonodi extratoracici invasi.
IV	Presenza di metastasi ematogene a distanza

Un'altra classificazione utilizzata di frequente negli ultimi anni è la IMIG: International Mesothelioma Interest Group (tab.a)

Sistema di stadiazione del mesotelioma proposto dall'IMIG	
T1a	tumore limitato alla pleura parietale, mediastinica o diaframmatica ipsilaterale
T1b	tumore coinvolgente la pleura parietale, mediastinica o diaframmatica ipsilaterale, con isolati foci tumorali a livello della superficie della pleura viscerale
T2	tumore coinvolgente tutte le superfici pleuriche ipsilaterali, associato ad invasione del diaframma, foci tumorali confluenti a livello della pleura viscerale, o estensione nel sottostante parenchima polmonare
T3	tumore coinvolgente tutte le superfici pleuriche ipsilaterali, associato ad interessamento della fascia endotoracica, estensione nel grasso mediastinico, isolati foci tumorali (resecabili) a livello della parete toracica, o invasione pericardica non trasmurale
T4	tumore coinvolgente tutte le superfici pleuriche ipsilaterali con diffusa estensione alla parete toracica, diretta estensione al peritoneo, alla colonna, agli organi mediastinici, alla pleura controlaterale, alla superficie interna del pericardio, o al miocardio vero e proprio
N0	assenza di interessamento linfonodale
N1	metastasi ai linfonodi broncopulmonari ipsilaterali, o ai linfonodi ilari
N2	metastasi ai linfonodi subcarenali, o mediastinici ipsilaterali
N3	metastasi ai linfonodi mediastinici controlaterali, o ai linfonodi della catena mammaria interna, o a qualsiasi linfonodo sopraclaveare
Mx	presenza di metastasi non valutabile
M1	assenza di metastasi a distanza
M2	presenza di metastasi a distanza
<i>Raggruppamento per stadi</i>	
Stadio I	
Ia	T1a, N0, M0
Ib	T1b, N0, M0
Stadio II	T2, N0, M0
Stadio III	qualsiasi T3, M0; qualsiasi N1, M0; qualsiasi N2, M0
Stadio IV	qualsiasi T4; qualsiasi N3; qualsiasi M1

Tab.a

Decorso e complicazioni

Il decorso dei mesoteliomi è quasi sempre molto rapido, accompagnato da un progressivo deterioramento delle condizioni generali. Per il passaggio delle cellule tumorali nel circolo ematico o linfatico possono originare metastasi in diverse sedi: polmone, fegato, rene, surrene, tiroide e scheletro.

La sopravvivenza è in genere non superiore ai diciotto mesi dalla scoperta del tumore e l'exitus è solitamente determinato dall'insufficienza respiratoria o da episodi infettivi polmonari intercorrenti,

dall'interessamento pericardico o miocardio, più raramente dalla diffusione metastatica.

La neoplasia può estendersi in senso mediale o periferico. Nel primo caso si ha interessamento mediastinico e dislocazione della trachea, abbassamento del diaframma, interessamento epatico. Nel secondo caso si ha invasione della parete costale, noduli sottocutanei, metastasi ai linfonodi ascellari e sovraclaveari. L'interessamento esteso della parete toracica porta ad una riduzione della espansibilità dell'emitorace colpito sino alla completa immobilità della parete. Nei casi estremamente avanzati con metastatizzazione diffusa e compressione delle strutture del mediastino sono comuni la sindrome mediastinica, l'interessamento addominale e la diffusione al pericardio o al polmone controlaterale.

Terapia

Chirurgia. Esistono due approcci chirurgici al mesotelioma in stadio I e in casi selezionati di mesotelioma in stadio II e III: pleurectomia/decorticazione (P/D) e pneumonectomia extrapleurica (EPP). Si tratta di interventi chirurgici estremamente specialistici che non vengono eseguiti in tutte le strutture. Lo scopo ultimo di queste procedure è la rimozione della malattia a livello macroscopico, con la consapevolezza che residui della malattia a livello microscopico resteranno. Proprio per questo motivo la chirurgia è da associarsi ad un trattamento locale chemio-immunoterapico, alla chemioterapia sistemica e alla radioterapia intraoperatoria e/o esterna.

La pneumonectomia extrapleurica è una procedura radicale che comporta la rimozione del polmone, della pleura, del pericardio e di una parte del diaframma. Durante l'intervento chirurgico il pericardio e il diaframma vengono ricostruiti con materiale protesico. I risultati sono

però ancora deludenti per lo scarso numero di pazienti eleggibili e per la elevata mortalità e morbidità peri-operatoria.

Alternativa all'intervento di pneumonectomia extrapleurica è la pleurectomia/decorticazione meno radicale perché implica solo la rimozione della pleura senza resezione del polmone sottostante. In alcuni casi, si possono rimuovere il pericardio e il diaframma, dipende dalle proporzioni del tumore. I vantaggi di questa procedura sono tempi di recupero generalmente più rapidi, e utilità per i pazienti che potrebbero non tollerare la più radicale EPP. Tra gli svantaggi vi è un maggiore rischio di recidiva della malattia a causa dell'impossibilità di rimuovere tutto il tumore e l'impossibilità di utilizzare dosi di radiazioni elevate a causa dei potenziali danni al polmone sottostante. La morbidità e mortalità perioperatoria è paragonabile a quello di interventi di chirurgia toracica maggiore. (Lucchi M; Mussi A, 2005). L'estensione della neoplasia oltre la pleura parietale (stadio II) limita l'effettuazione dell'intervento chirurgico e candida i pazienti a terapie palliative (drenaggio e riespansione polmonare). Negli stadi III e IV non esiste alcuno spazio per la terapia chirurgica.

La toracentesi spesso risolve drasticamente la dispnea determinata da un abbondante versamento pleurico, ma l'evacuazione deve essere limitata a 1200-1500 ml per volta per evitare un collasso cardio-circolatorio. Un'altra complicazione della toracentesi è il pneumotorace che si verifica qualora la pleura viscerale venga punta o se dell'aria penetra nello spazio pleurico (che è a pressione subatmosferica) per una discontinuità del sistema di drenaggio della toracentesi. Il liquido pleurico in genere si riassorbe spontaneamente. Quindi anche rinunciando all'opzione più demolitiva, molto per il paziente può essere fatto, a cominciare dal controllo dei versamenti pleurici con interventi toracoscopici.

Radioterapia: 20-40 Gy in 4 settimane sono efficaci sia nel controllare il dolore che il versamento. L'isotopoterapia intracavitaria utilizza l'oro colloidale (^{198}Au) per la sua affinità con le cellule di rivestimento delle sierose. Le dosi impiegate oscillano tra 50 e 100 millicurie ripetute ad intervalli di 3-6 mesi. Tale terapia non viene effettuata nel caso in cui si abbiano aderenze estese e noduli di grosse dimensioni sulla superficie pleurica a causa del rischio di insorgenza di necrosi locale connessa alla possibilità di raccolta del radioisotopo.

Chemioterapia: è in evoluzione con la scoperta di nuovi farmaci che hanno migliorato la sopravvivenza e la qualità di vita in questa patologia considerata da sempre chemioresistente. Sono stati valutati molti chemioterapici sia in monochemioterapia che in regimi di combinazione con risposte variabili dallo 0 al 48% con risposte maggiori per le associazioni. Fra i farmaci usati in monochemioterapia lo standard è rappresentato dalle antracicline con una risposta inferiore al 20%. Alcuni dei farmaci utilizzati più comunemente sono:

- Cisplatino (Platinol)
- Carboplatino (Paraplatin)
- Gemcitabina (Gemzar)
- Doxorubicina (Adriamycin)
- Raltitrexed (Tomudex)
- Vinorelbina (Navelbine)

Tra le polichemioterapie le più usate sono quelle a base di platino associate ad un secondo farmaco come:

cisplatino + gemcitabina

carboplatino + paclitaxel

Ultimamente dati interessanti sono emersi dagli antifolati e in particolare dal pemetrexed (Alimta), un nuovo farmaco che associato al cisplatino ha mostrato un'azione mirata su questo tumore. (Ricci S. et al; Pisa 21-22 Aprile 2005)

·*Terapie combinate*

·*Terapia intrapleurica*: utilizzabile soltanto nelle fasi iniziali della neoplasia. I farmaci maggiormente utilizzati sono cisplatino, mitomicina C, ara-C .

Nell'approccio terapeutico palliativo della fase avanzata con abbondante versamento pleurico si ricorre al talcaggio . Con questa tecnica viene impiegato un agente sclerotizzante che erode o irruvidisce le superfici pleuriche producendo un'aderenza, che impedisce ulteriori effusioni eliminando lo spazio intrapleurico in cui si accumula il liquido. Il talco sembra essere l'agente più efficace con una percentuale di successo di circa il 95%. Un'altra cura palliativa è l'irradiazione preventiva lungo le sedi delle procedure invasive, come le tracce dell'ago della biopsia, le incisioni della toracosopia e/o le sedi del tubo di drenaggio toracico.

Nuove prospettive

A parte le precedentemente citate metodiche di trattamento combinato, sono in corso di studio protocolli di terapia genica mediante vettore adenovirale anti SV40 e mediante lo stesso vettore trasportante l'Herpes Simplex timidina-chinasi, gene suicida, seguito da trattamento con ganciclovir.

Altri studi di biologia molecolare aprirebbero nuove e suggestive ipotesi terapeutiche utilizzando farmaci che inibiscono l'espressione di fattori di

crescita cellulare (Epidermal growth factor o Vascular endothelial growth factor).

Nelle forme più avanzate con abbondante versamento pleurico si stanno proponendo nuove alternative a scopo pleurodesico (adesione dei due foglietti pleurici in maniera tale da inibire la formazione del versamento) rappresentate dall'immunoterapia endopleurica con Inteleukina-2 e Beta Interferone.

Prognosi

La sopravvivenza mediana varia tra i 12 ed i 15 mesi dall'inizio della sintomatologia e tra gli 8 ed i 10 mesi dalla diagnosi. Allo stato attuale più del 75% dei pazienti muore entro l'anno e praticamente nessuno sopravvive a 5 anni. Ciò è dovuto al ritardo con cui viene effettuata la diagnosi. Fattori prognostici favorevoli sono la giovane età, il buon performance status, la durata dei sintomi superiore a 6 mesi, lo stadio iniziale della malattia. Il trattamento combinato andrebbe iniziato il più precocemente possibile evitando di affrontare la malattia in uno stadio avanzato con pazienti in condizioni generali compromesse (Peto J,1999).

1.7 Sorveglianza sanitaria

Il D.Lgs.277/91 all'art. 29 ed in particolare l'art.17 e l'art. 69 del D.Lgs.626/94 prevedono l'opportunità che venga effettuata sorveglianza sanitaria nel caso di esposizione ad agenti cancerogeni anche dopo la cessazione del lavoro.

In realtà, però, per sorveglianza sanitaria si intende tutta una serie di controlli medici periodici e longitudinali nel tempo su di un singolo

lavoratore; ben diversa e poco chiarita la sorveglianza per una popolazione così numerosa come quella degli ex-esposti: per quanto riguarda il lavoratore, la sorveglianza sanitaria ha carattere ripetitivo o periodico con scadenza prefissata, finalizzata alla prevenzione e alla tutela della salute, obbligatoria ai sensi della legge, in rapporto alla valutazione dei rischi.

Per quanto riguarda il lavoratore “ex esposto” ciò non è obbligatorio, quindi il lavoratore esposto in passato a cancerogeni occupazionali può spontaneamente effettuarla o a seguito di richiamo attivo ovvero di offerta di assistenza da parte del SSN per particolari patologie rilevanti. In quest’ultimo caso non si può definire certo una prevenzione primaria sulla collettività, ma rimane quella secondaria a livello individuale. Occorre quindi rendere questa sorveglianza il più possibile efficace per il singolo individuo cercando di arrivare il prima possibile ad una diagnosi precoce o, se ciò non è possibile, effettuare una raccolta di informazioni riguardanti le eventuali patologie rilevate da dati sanitari come cartelle cliniche, denunce INAIL di malattia professionale o certificati di decesso, o attivare le figure professionali sanitarie più vicine agli ex esposti, cioè i loro medici curanti.

Gustavsson afferma che in campo occupazionale metodi di screening possono essere più giustificati in piccoli gruppi esposti ad alti livelli di cancerogeni che non in grandi gruppi di esposti a bassi livelli (Gustavsson P, 1998).

Un aspetto particolarmente interessante è l'utilizzo di indicatori di danno precoce, per la prevenzione negli ambienti di lavoro. Non esistono a tutt’oggi protocolli specifici convalidati per quanto riguarda il ricorso ai test genetici per monitorare modificazioni biologiche individuali che abbiano un significato prognostico e quindi preventivo. L'utilizzo di questi marcatori biologici per finalità di prevenzione cosiddetta “collettiva” è

stata comunque ipotizzata, in attesa di convalida dei test a fini decisionali sui singoli casi (Pira E et al.,1999).

I vantaggi di un programma di sorveglianza sanitaria possono essere riassunti in termini di: utilità clinica, cioè possibilità di efficace diagnosi precoce e controllo dello stato di salute; utilità di sanità pubblica, con riduzione del rischio aggiuntivo; utilità etico-sociale e possibilità di informazione capillare e contatto individuale; utilità medico-legale, con una tempestiva certificazione di malattia professionale; utilità epidemiologica, cioè migliore conoscenza del rapporto causa- effetto.

Per quanto riguarda l'asbestosi, è possibile effettuare una diagnosi precoce, la cui utilità è purtroppo limitata perché non sono disponibili interventi terapeutici risolutori.

Per il mesotelioma non esistono, al momento attuale, test di screening, analogamente per il tumore polmonare.

Il percorso iniziale di una sorveglianza sanitaria negli ex-esposti potrebbe consistere in una campagna informativa, per tutta la popolazione, sui rischi per la salute legati alla esposizione ad amianto e sulle misure preventive disponibili come la sospensione dell'abitudine al fumo e della esposizione a polveri ed irritanti respiratori, seguita per i singoli soggetti dalla raccolta della anamnesi lavorativa e patologica con questionari mirati, dall'esame della documentazione sanitaria e dalla visita medica, con orientamento sull'eventuale futuro percorso di sorveglianza sanitaria. Poiché la legge non dà alcuna indicazione su quali siano i soggetti che devono eseguire la sorveglianza sanitaria degli ex-esposti è naturale che l'istanza sociale venga primariamente rivolta alle pubbliche istituzioni. Ad oggi numerose sono le iniziative in tema di sorveglianza sanitaria di ex esposti occupazionali ad amianto che sono state prese sul territorio nazionale, sia da parte dei Servizi Pubblici di Igiene e Prevenzione nei luoghi di lavoro che da parte di ambulatori

ospedalieri ed universitari di Medicina del Lavoro (Guglielmi G, 2005; Loi A M, 2005; Pesenti B, 2005). Sostanzialmente questi protocolli di sorveglianza concordano nel prevedere una accurata anamnesi lavorativa (al fine di ricostruire il nesso di causalità), l'esame obiettivo, Rx torace (secondo BIT '80), prove di funzionalità respiratoria con studio della diffusione alveolo-capillare e, nei casi di sospetta patologia pleuroparenchimale asbesto correlata, indagini radiologiche di II livello (HRCT).

Al momento attuale non sono noti protocolli di screening per mezzo di marcatori ematochimici di popolazioni di ex esposti.

1.8 I markers oncologici

Attualmente differenti markers oncologici vengono utilizzati per una accurata valutazione della malattia dalla diagnosi fino alla valutazione della risposta alla terapia o a fini prognostici o, ancora, per la diagnosi precoce di recidive e/o metastasi (Chatterjee S K, 2005).

Uno dei più promettenti ruoli dei biomarkers sarà quello di utilizzarli nello screening di massa di popolazioni ben individuate, al fine di individuare soggetti ancora asintomatici con malattia tumorale ai primi stadi.

Schematicamente, è possibile classificare i markers oncologici, in base alle loro funzioni ed applicazioni cliniche, in 6 differenti gruppi:

- a) Biomarkers diagnostici; a scopo diagnostico, assumono particolare importanza soprattutto quelli in grado di dare informazioni nelle fasi precoci di malattia, quando questa è ancora asintomatica. Appartengono a questo gruppo il PSA per il cancro della prostata, il Ca 125 per i carcinomi ovarici, la Calreticolina e la survivina per il cancro della vescica, la Calcitonina per il Carcinoma midollare della tiroide.

- b) Biomarkers prognostici; possono essere considerati fattori prognostici negativi, ad esempio, mutazioni dell'oncosoppressore p53 e iperespressione del protooncogene bcl-2 nel Ca prostatico oppure livelli elevati di β -2 microglobulina al momento della diagnosi di linfomi e mieloma multiplo.
- c) Fattori predittivi; anticipano l'osservazione di un evento (patologia) in individui portatori del fattore. Appartiene a questo gruppo l'espressione dell'oncogene Her-2 nel tumore del seno.
- d) Biomarkers di monitoraggio della terapia; indicano la risposta alla terapia. A tale scopo è possibile misurare, ad esempio durante i cicli di chemioterapia, i livelli di CEA per diversi tipi di cancro (colorettale, pancreatico, mammario) o i livelli di Ca 125 per i carcinomi ovarici.
- e) Indicatori di rischio; indicano la probabilità di osservare un evento (patologia) in un gruppo di persone accomunate dalla presenza dello stesso fattore di rischio. Esempi: la positività per infezione da SV40 per il mesotelioma pleurico o le mutazioni dei geni Brca-1 e Brca-2 per il tumore mammario.
- f) Markers di ripresa di malattia (recidiva o metastasi); a tale scopo vengono utilizzati la Tireoglobulina nei carcinomi papillari della tiroide o il PSA nel ca prostatico.

Mesotelina

La mesotelina è una glicoproteina di membrana del peso atomico di 40 kDa, legata alla superficie cellulare da un fosfatidilinositolo, che pare essere implicata nei meccanismi di adesione cellulare e nel riconoscimento e trasmissione dei segnali intercellulari (Chang K, 1992). E' sintetizzata a partire da un precursore proteico di 69 kDa che dà origine, oltre alla molecola di membrana, ad un fattore solubile ad azione potenziante i megacariociti (MPF). La sua specifica presenza su cellule

di origine mesoteliale venne dimostrata grazie all'utilizzo di un anticorpo monoclonale ottenuto immunizzando dei topi con cellule di carcinoma ovarico (Sholler N, 1999). In questa maniera venne identificata la presenza di mesotelina di membrana sulla quasi totalità di carcinomi dell'ovaio testati (95% dei campioni), 43% dei campioni di carcinomi endometriali, 62% di carcinomi della cervice e 43 % di carcinomi dello stomaco. Ne fu inoltre dimostrata la presenza su cellule normali di mesotelio pleurico. In questo primo studio si intuì inoltre si sarebbe potuto utilizzare la mesotelina sierica solubile come marker diagnostico per un tumore ed, eventualmente, come indicatore di risposta alla terapia. Infatti venne testata la concentrazione sierica di mesotelina, grazie ad uno specifico saggio ELISA, nei sieri di pazienti affette da carcinoma ovarico: nel 76,6% (23/30) dei casi furono dimostrati livelli elevati rispetto ad una popolazione sana di controllo; una percentuale di positività inferiore (66,6% - 6/9) venne riscontrata in sieri di soggetti affetti da cancro polmonare. Il primo a dimostrare che livelli aumentati di mesotelina si trovano anche nel siero di soggetti affetti da mesotelioma maligno della pleura fu Robinson (Robinson B W S, 2003). Utilizzando sempre Ab monoclonali e saggiando con metodiche ELISA il siero di diversi pazienti, utilizzando come cut-off un valore di assorbanza alla spettrofotometria a 420 nm di 0,218 (valore corrispondente al valore medio osservato nei controlli sani non esposti ad asbesto più 3 volte la deviazione standard) ottenne risultati interessanti (vedi tab. 3).

I risultati di Robinson evidenziarono per questo test una sensibilità ed una specificità pari rispettivamente all'84% ed al 100% nel differenziare i mesoteliomi maligni da altre patologie pleuriche.

In particolare, i valori medi di mesotelina sierica per i gruppi dei mesoteliomi maligni, controlli sani esposti ad asbesto e controlli non

esposti erano rispettivamente pari a 0,5 ($\pm 0,35$ SD), 0,18 (0,08 SD) e 0,14 (0,03 SD).

Mesotelioma	37/44 (84%)
M. Epiteliomorfo	23/25 (92%)
M. Sarcomatoide	1/4 (25%)
M. di istotipo non specificato	13/15
Patologia pleurica non neoplastica (placche, pleuriti etc.)	0/38 (0%)
Ca polmonare primit. o secondario (eccetto adenoca. primitivi)	1/30 (3,3%)
Adenocarcinoma polmonare	0/7 (0%)
Patologia polmonare infiammatoria (sarcoidosi, LES, asbestosi etc)	2/92 (2,17%)
Controlli sani	7/68 (10,3%)
Non esposti ad asbesto	0/28
Esposti ad asbesto	7/40 (17,5%)

Tab. 3: Individui con livelli elevati di mesotelina sierica suddivisi per categoria (mod. da Robinson et al, 2003)

Nessuno dei soggetti affetti da adenocarcinoma polmonare mostrò livelli alterati di mesotelina, fatto questo importante dal punto di vista di una eventuale diagnosi differenziale, visto che spesso gli adenocarcinomi hanno una crescita “mesothelioma-like” (Fontanini G, 2005) .

Per quanto concerne l'istotipo, furono riscontrati valori più elevati e percentuali di positività maggiori per la variante epiteliomorfa rispetto alla sarcomatoide.

I soggetti che avevano tumori di massa maggiore presentarono concentrazioni sieriche di mesotelina più elevate, l'ipotesi che la concentrazione sierica del marker fosse influenzata con una proporzionalità diretta dalla massa neoplastica, venne confermata dalla osservazione che si otteneva una significativa riduzione di concentrazione del marker nei pazienti sottoposti a debulking chirurgico del tumore.

Infine, fu approntato un follow-up clinico per i 7 pazienti ex esposti ad asbesto che avevano livelli elevati di mesotelina. Ben 3 di questi morirono per mesotelioma maligno della pleura, rispettivamente al 3°, 6° e 6° anno successivo al primo prelievo, mentre un quarto paziente morì per carcinoma polmonare al 4° anno. Successivamente) Hassan e Onda, con metodiche di misurazioni simili riscontrarono elevati livelli di mesotelina sierica, in soggetti affetti da mesotelioma pleurico maligno, in percentuali paragonabili o superiori ai risultati di Robinson, confermando inoltre l'osservazione di una rapida riduzione di concentrazione della stessa mesotelina in pazienti sottoposti a riduzione chirurgica della massa tumorale (Hassan R et al, 2006; Onda M et al, 2006)

In uno studio di immunoistochimica di un autore giapponese pubblicato di recente, Ab monoclonali provenienti da coniglio immunizzato con mesotelina umana, sono stati usati su sezioni di mesoteliomi maligni provenienti da campioni deparaffinati. Ig di capra (coniugate con perossidasi per ottenere una reazione colorimetrica) specifiche per gli Ab di coniglio utilizzati nel saggio immunoistochimico, hanno svelato una intensa reattività sulle membrane delle cellule di mesotelioma, confermando quindi che la mesotelina circolante nei pazienti affetti da tale patologia proviene proprio da una "iperespressione" della glicoproteina da parte delle cellule neoplastiche (Shiomi K et al.,2006)

Un altro lavoro recentemente apparso pone l'accento sulla differente concentrazione di mesotelina nel siero e in versamento pleurico fra pazienti affetti da mesotelioma maligno e pazienti con metastasi pleuriche o versamenti pleurici benigni. Usando il Mesomark, un nuovo kit sempre basato su una metodica ELISA disponibile in commercio, è stato infatti osservato un grading decrescente di concentrazione del markers per queste diverse classi di patologia pleurica, sia nel siero che nel liquido pleurico, suggerendo quindi una applicabilità del test nel

differenziare soggetti affetti da versamento pleurico dovuto a mesotelioma maligno. In particolare, le concentrazioni sieriche più elevate sono state riscontrate per soggetti affetti da mesotelioma maligno (v. medio 2,05 nM), quindi per le metastasi pleuriche (v. medio 1,02 nM) ed infine valori sensibilmente inferiori per soggetti affetti da versamenti pleurici benigni (v. medio 0,55 nM). Per quanto concerne invece la concentrazione nel liquido pleurico, i valori più elevati si sono riscontrati per i soggetti affetti da mesotelioma (v. medio 46,1 nM), mentre non sono risultate statisticamente significative le concentrazioni per soggetti affetti da metastasi pleuriche e da versamenti pleurici benigni (rispettivamente v. medi pari a 6,36 e 6,4 nM) (Scherpereel A et al., 2006)

Un cenno merita infine la potenziale applicazione delle mesoteline per lo sviluppo di una terapia tumore-specifica, data la loro limitata espressione in cellule normali e, d'altra parte, l'importante presenza su cellule neoplastiche di diversi tumori (Hassan R et al., 2004). Si è visto infatti che la mesotelina è una proteina immunogena, pertanto può essere usata come target per un vaccino anticancro.

Trials clinici preliminari che utilizzano una immunotossina anti mesotelina costituita da un Ab antimesotelina combinato con la esotossina A di *Pseudomonas Aeruginosa*, hanno mostrato che pazienti così trattati ottengono beneficio in termini di arresto della progressione della malattia e quindi di sopravvivenza.

2. MATERIALI E METODI

2.1 Caratteristiche della popolazione in esame

Nel lavoro di questa tesi da una casistica di 46 pazienti affetti da mesotelioma maligno della pleura, ricoverati per diagnosi e cura presso l'Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, sono stati selezionati quei casi che sono stati sottoposti a 2 o più dosaggi di mesotelina sierica e dei quali siamo riusciti a raccogliere le informazioni, necessarie a evidenziare una possibile associazione tra l'andamento dei valori di dosaggi serati di mesotelina sierica e il decorso clinico della malattia, in maniera più dettagliata e completa.

Ogni paziente è stato infatti sottoposto (dopo aver firmato un modulo di consenso informato approvato dal Comitato Etico) ad un'intervista diretta, strutturata sulla base dei questionari dei centri operativi regionali del Re.Na.M. (COR) operanti in Italia.

Da questi sono stati estrapolati i dati anagrafici, l'anamnesi patologica per malattie respiratorie e neoplastiche, la familiarità oncologica, l'abitudine al fumo di sigaretta, la storia professionale con la relativa esposizione ad asbesto e informazioni concernenti il momento della diagnosi (data, sintomatologia all'esordio, tipo istologico della neoplasia e stadiazione). Sulla base dell'anamnesi lavorativa tali soggetti sono stati poi classificati come di seguito: esposizione professionale certa, probabile, possibile, improbabile, domestica, ambientale.

Nel tempo sono stati registrati i trattamenti di tipo chirurgico e medico a cui sono stati sottoposti, il decorso clinico della malattia con gli eventuali relativi passaggi di stadio.

Solo dal novembre 2004 il dosaggio di tale marcatore è entrato a far parte del protocollo diagnostico-terapeutico di tali pazienti; per questo motivo e per la breve sopravvivenza media caratteristica della patologia, disponiamo di un limitato numero di soggetti con più dosaggi seriati di mesotelina. Di questi ne sono stati selezionati sei che presentavano le informazioni più dettagliate per lo studio.

2.2 Dosaggio della Mesotelina sierica solubile

I campioni di sangue di tutti gli individui sono stati ottenuti tramite prelievo venoso, lasciato coagulare per circa 30 minuti e quindi centrifugato per 15 minuti a 1000 giri/min. Le aliquote di siero sono quindi state conservate, fino al momento del dosaggio, a -80° C.

Le concentrazioni di mesotelina sierica sono state determinate con il MESOMARK (® by Fujirebio Diagnostics, Inc. Malverne, PA, USA). Il MESOMARK è un saggio immunoenzimatico a due step di tipo quantitativo, basato su una metodica colorimetrica standardizzata di tipo ELISA. Per costituire il sandwich immunoenzimatico utilizza due diversi Ab monoclonali, il 4H3 e l'OV569, uno per catturare la macromolecola di mesotelina, l'altro per la reazione colorimetrica eseguita grazie all'aggiunta di un substrato cromogenico.

Esiste una reazione di proporzionalità diretta fra la quantità di mesotelina contenuta nel campione e la Densità Ottica letta allo spettrofotometro titolatore.

I dosaggi sono stati eseguiti da personale che era all'oscuro della diagnosi dei soggetti corrispondenti ai codici posti sulle provette di siero. Tutti i campioni di siero sono stati analizzati due volte.

3. RISULTATI

Paziente: B. I.

Età: 75 anni.

Sesso: maschile.

Residenza: Livorno (dal 1959 al 1967 ha abitato a 300 m dal porto).

Anamnesi familiare per malattie oncologiche: negativa.

Abitudini voluttuarie: non fumatore.

Anamnesi patologica remota: non hai mai sofferto di malattie broncopolmonari.

Storia professionale: nel periodo dal 1947 al 1988 ha lavorato a tempo pieno presso la Vetreria Borma (LI) produttrice di manufatti in vetro, lana di vetro, lastre di vetro e bottiglie.

La sua attività principale è stata quella di infornatore (infornamento di sabbia silicea, soda, manganato e rottami di vetro), ma durante gli anni ha svolto anche altre mansioni. Per un periodo di 6 mesi si è occupato della demolizione e costruzione di nuovi forni con rimozione manuale di pannelli in cartone-amianto; saltuariamente ha fatto il segantino e negli ultimi anni è stato addetto alla manutenzione e riparazione di mezzi meccanici e di nastri trasportatori.

In pensione dal 1988. Esposizione all'amianto probabile.

Anamnesi patologica prossima: Nel '99 in seguito a comparsa di dispnea per versamento pleurico è stata fatta diagnosi di MM.

Stadio alla diagnosi: stadio II (T2 N0)

Terapia:

Nel '99 **intervento chirurgico** seguito da un ciclo di **chemioterapia** con ciplatino e gemcitabina .

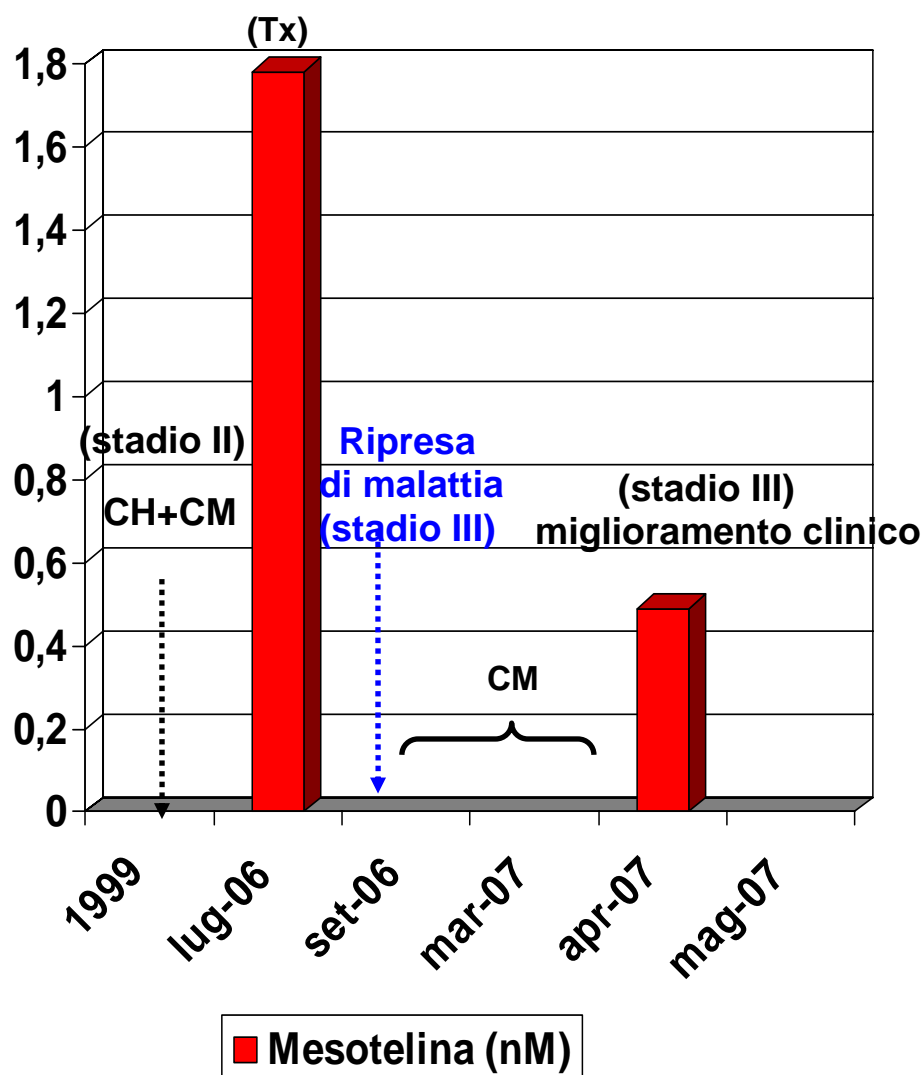
- 1° prelievo di mesotelina (4 luglio 2006) : 1,782 nM.

Nel settembre 2006 si ha ripresa di malattia confermata da una biopsia chirurgica che indica il passaggio allo stadio III (T3, Nx). Inizia così un ciclo di chemioterapia con cisalimta fino a marzo 2007 a pieno dosaggio con riduzione del 50% delle lesioni.

Ad aprile ha iniziato un ciclo di chemioterapia con alimta che è stato sospeso per tossicità.

- 2 prelievo di mesotelina (27 aprile 2007): 0,49 nM

B.I.: maschio, 74 aa, MPM epiteliomorfo



Paziente: B.M.

Età: 57 anni

Sesso: maschile

Residenza: Fivizzano (MS), dal 1947 al 1973 ha abitato a 100 m da una stazione ferroviaria.

Anamnesi familiare per malattie oncologiche: negativa.

Abitudini voluttuarie: fumatore per 18 anni (15 sigarette con filtro al giorno), ha smesso di fumare da 24 anni.

Anamnesi patologica remota: bronchiti ricorrenti e TBC.

Storia professionale: Dal 1965 al 1967 ha lavorato presso varie ditte di Lerici (SP) come apprendista idraulico, dal 1967 al 1976 presso la ditta Sincra (SP) come carpentiere riparatore a bordo di navi, dal 1976 al 1992 presso la Marinarsen (Marina Militare) La Spezia sempre con le stesse mansioni, dal 1992 al 2004 presso la Marimuni (Marina munizionamento navale) Aulla (MS) come carpentiere a terra. Spesso nello stesso ambiente dove lavorava altri effettuavano opere di manutenzione di tubazioni coibentate con amianto che comportavano rimozione dello stesso.

In pensione dal gennaio 2004. Esposizione all'amianto probabile.

Anamnesi patologica prossima: Nel 2006 a seguito di indagini per un persistente dolore al torace viene fatta diagnosi di MM.

Stadio alla diagnosi: stadio III (T3, N2, Mx)

Terapia:

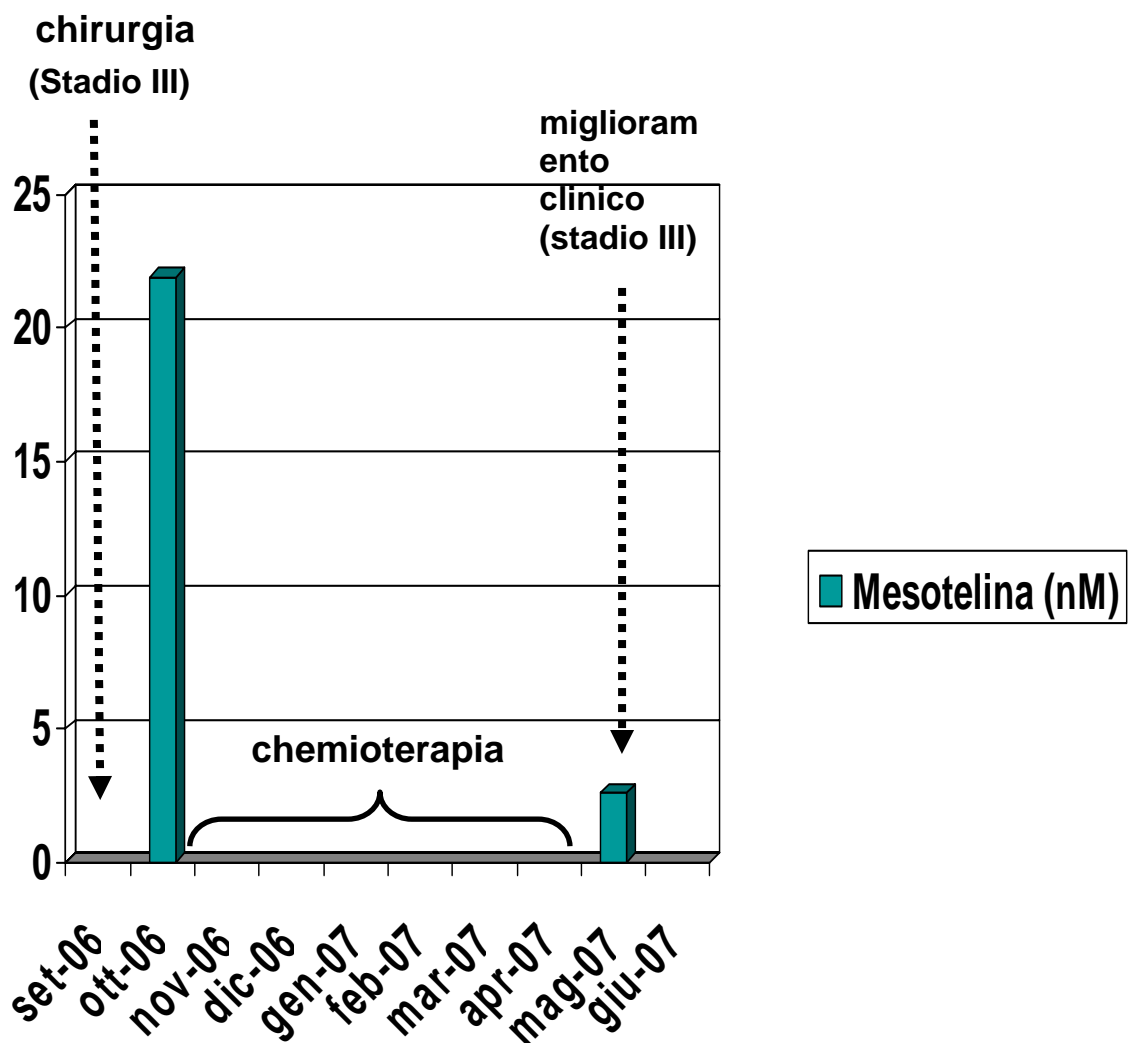
intervento chirurgico (settembre 2006).

- 1° prelievo (13 ottobre 2006): 21,88 nM

Chemioterapia con ciplatino e alimta (dal 31 Ottobre 2006 fino al marzo 2007) poi solo alimta dal maggio 2007 a ora. Dopo questi cicli di chemioterapia i registra un miglioramento clinico.

- 2°prelievo (24 maggio 2007): 2,62 nM

B.M.: maschio, 57 aa, MPM epiteliomorfo



Paziente: M.D.

Età: 80 anni.

Sesso: Maschile.

Residenza: Livorno.

Anamnesi familiare per malattie neoplastiche: negativa.

Abitudini voluttuarie: fumatore per 59 anni (20 sigarette al giorno), ha smesso di fumare da 3 anni.

Anamnesi patologica remota: riferite bronchiti ricorrenti.

Storia professionale: ha lavorato a tempo pieno presso un'officina meccanica come riparatore auto (anche sostituzione di frizioni, pastiche freni in amianto) e verniciatore delle stesse. In pensione da quando aveva 60 anni. Esposizione all'amianto probabile.

Anamnesi patologica prossima: A luglio 2005 viene fatta diagnosi di MPM a seguito di indagini eseguite per la comparsa di dispnea e versamento pleurico.

Stadio alla diagnosi: stadio III (T3, No)

Terapia:

pleurodesi fisica (27 luglio 2005) seguita da Chemioterapia (da ottobre a marzo 2005).

- 1° prelievo di mesotelina (28 luglio 2005): 1,821 nM.

chemioterapia (12 febbraio 2006): alimta (da febbraio 2006 a marzo 2006); per ripresa di malattia esegue nuovo ciclo con alimta ultimato in Aprile 2006.

- 2° prelievo di mesotelina (3 maggio 2006): 3,359 nM.

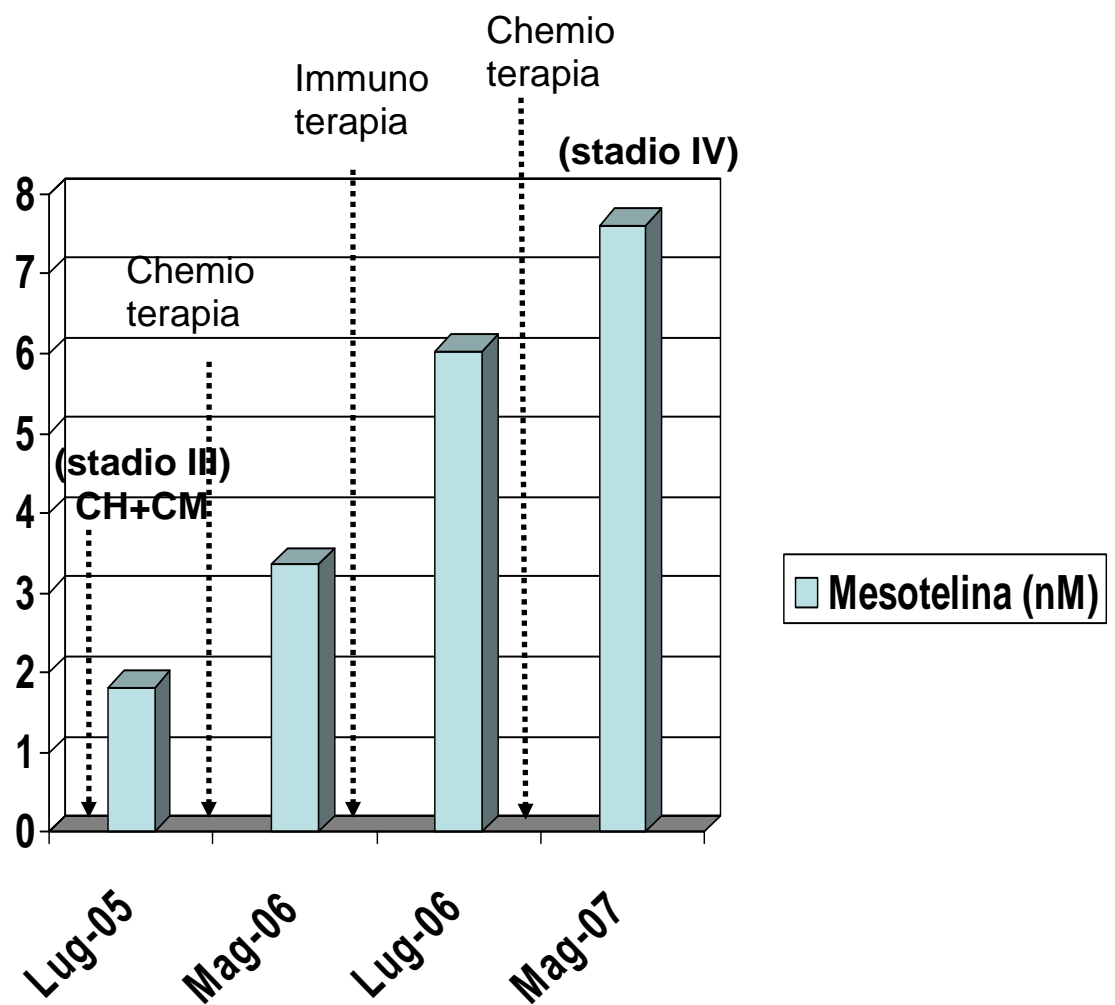
Immunoterapia (da marzo 2006 a luglio 2006)

- 3° prelievo di mesotelina (5 luglio 2006): 6,031 nM.

Il paziente subisce un peggioramento clinico e viene sottoposto ad un nuovo ciclo di chemioterapia con Alimta a cicli continui (da agosto 2006 a Aprile 2006).

- 4° prelievo di mesotelina (3 maggio 2007): 7, 61 nM. Il paziente subisce un peggioramento clinico documentato anche da un passaggio della neoplasia al quarto stadio.

M.D.: maschio, 78 aa, MPM epitelioromorfo



Paziente: M.V.

Età: 60 anni.

Sesso: maschile.

Residenza: Livorno

Anamnesi patologica prossima: nel 2003 dopo aver eseguito indagini per comparsa di dispnea e versamento pleurico viene fatta diagnosi di MPM.

Stadio alla diagnosi: stadio II (T2, No)

Terapia:

Chirurgia (decorticazione) novembre 2003 + RT su ferita chirurgica.

Chemioterapia: ciclo continuo cisplatino + gemcitabina (dal dicembre 2003 al marzo 2004).

Immunoterapia: IL-2 (da giugno 2004 a gennaio 2005).

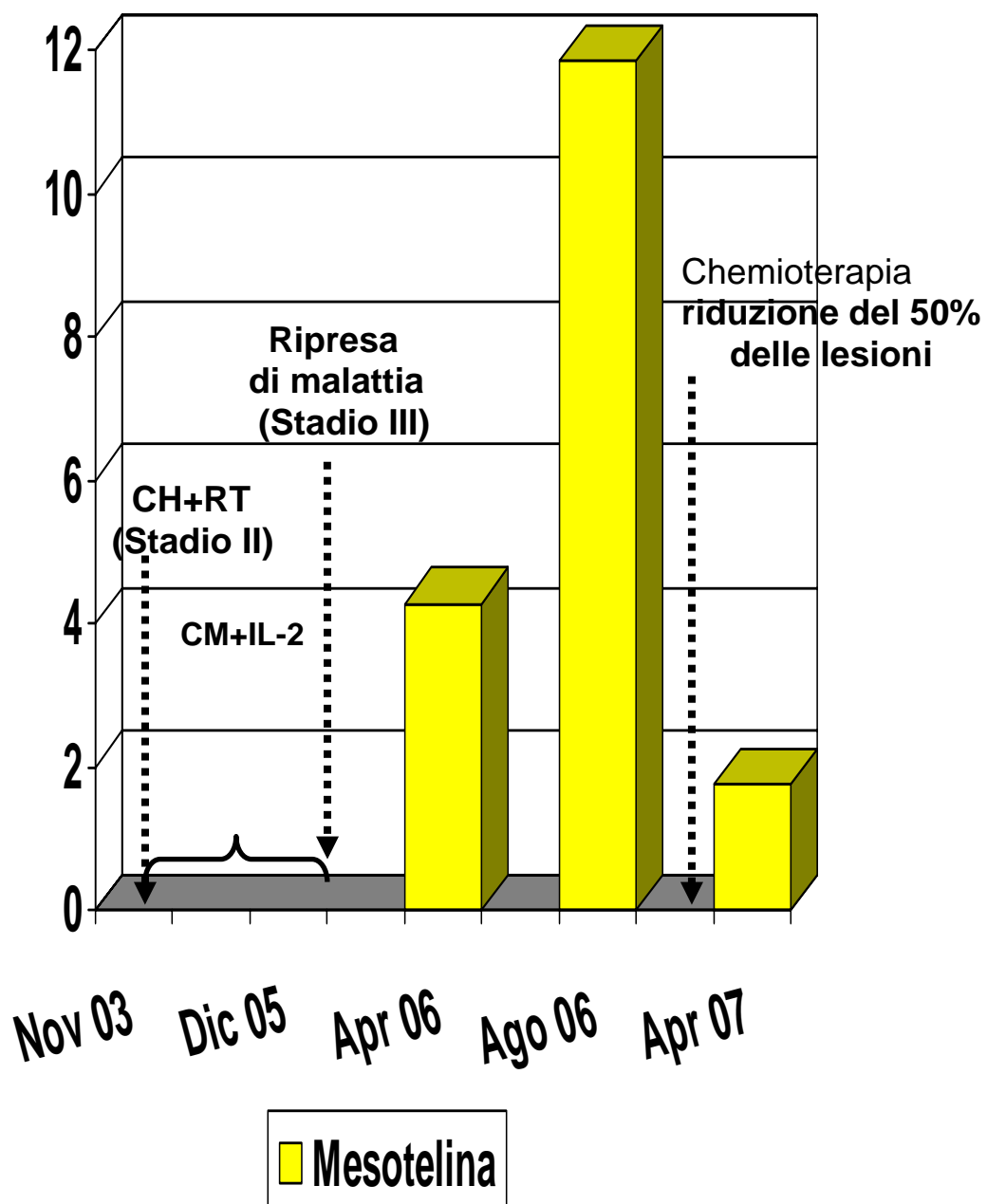
Nel dicembre 2005 si ha ripresa di malattia e passaggio allo stadio III

- 1° prelievo di mesotelina (1 aprile 2006): 4,287 nM.
- 2° prelievo di mesotelina (29 agosto 2006): 11,839 nM.

Chemioterapia: carbo-alimta (da ottobre 2006 a marzo 2007) poi terapia a cicli continui con Alimta vista la buona risposta terapeutica con una riduzione del 50% delle lesioni.

- 3° prelievo di mesotelina (27 aprile 2007): 1,76 nM.

M.V.: maschio, 60 aa, MPM epitelioromorfo



Paziente N.G.

Età: 69 aa.

Sesso: femminile

Residenza: Marina di Massa (MS)

Anamnesi familiare per malattie neoplastiche: negativa.

Abitudini voluttuarie: Ha fumato per 20 anni circa 15 sigarette al giorno (con filtro), ha smesso da 20 anni.

Anamnesi patologica remota: non ha mai sofferto di malattie broncopolmonari importanti.

Storia professionale: dal 1964 al 1970 ha lavorato come apprendista parrucchiera. Dal 1987 al 1990 è stata titolare di una rosticceria presso un campeggio di M. di Massa. Dal 1990 al 1998 ha lavorato come addetta al lavaggio di auto presso un autolavaggio di Lerici (SP). Dal '48 al '72 ha abitato con il padre, operaio tubista di impianti industriali, mentre dal '72 vive con il marito operaio tubista che non ha mai lavorato in prima persona con l'amianto ma negli stessi luoghi di lavoro altri lo utilizzavano. Esposizione professionale possibile.

Anamnesi patologica prossima:

Stadio alla diagnosi: stadio III (T3, N0) nel 2000.

Terapia:

- chirurgia (maggio 2002)
- chemioterapia (novembre 2002)
- Immunoterapia (ottobre 2003)

In **seguito** a questi due cicli di terapia si è registrata una progressione di malattia, per cui il paziente è stato sottoposto a due nuovi cicli:

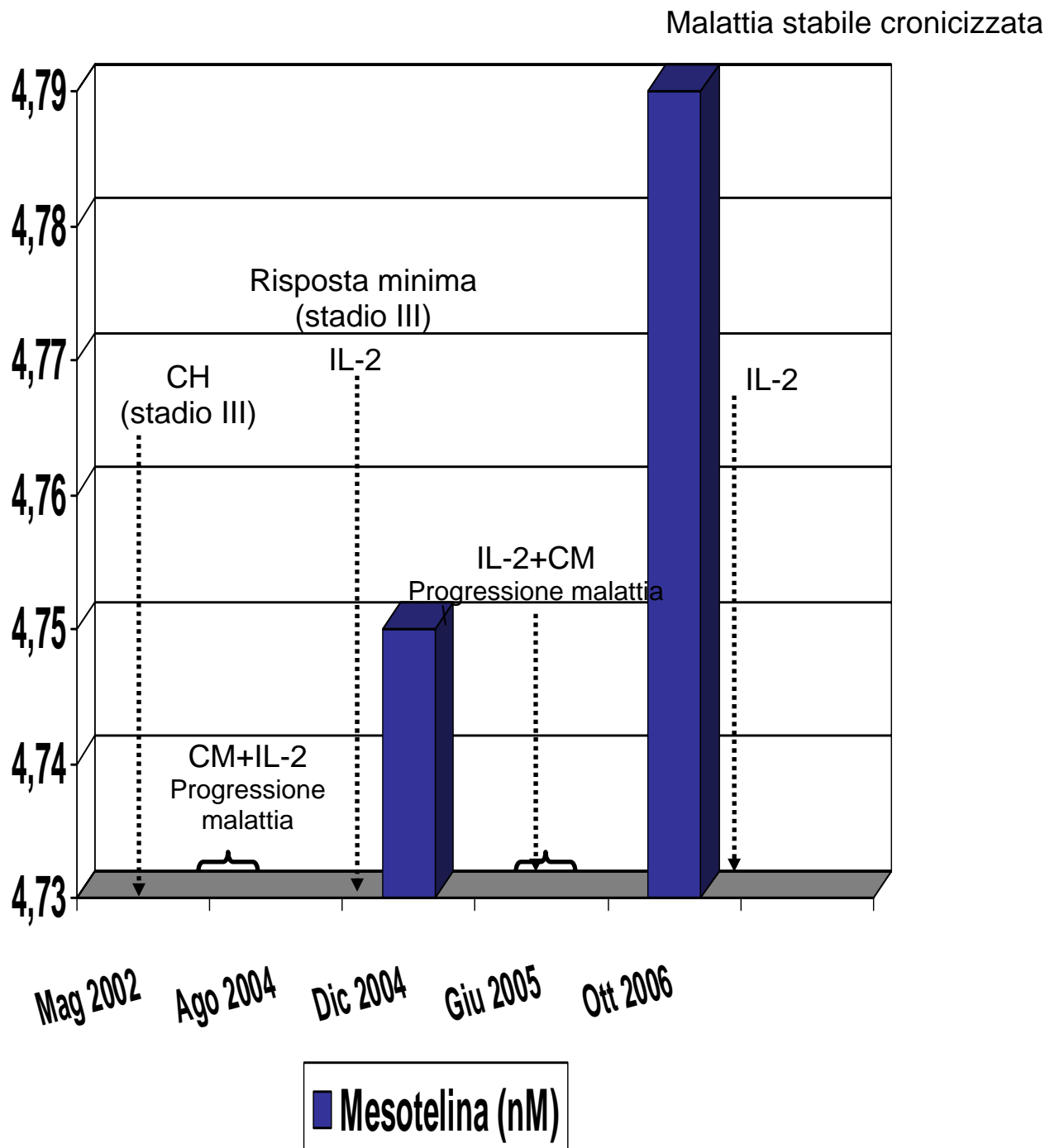
- chemioterapia (novembre 2004)
- Immunoterapia (dicembre 2004)
- 1° prelievo di mesotelina (13 dicembre 2004): 4,75 nM (stadio III)
 - Immunoterapia (Marzo 2005)
 - Chemioterapia (giugno 2005)

Dopo tali trattamenti si ha sempre progressione di malattia, per cui si prosegue con una terapia di terza linea:

- Immunoterapia (da febbraio 2006, tutt'ora in corso)
- 2° prelievo di mesotelina (5 ottobre 2006): 4,79 nM

La paziente è stabile, con malattia presente cronicizzata.

N.G.: femmina, 58 aa, MPM epitelioromorfo



Paziente: B. A.

Età: 73 aa.

Sesso: maschile.

Residenza: Pisa.

Anamnesi familiare per malattie neoplastiche: negativa.

Abitudini voluttuarie: Ha fumato per 30 anni circa 20 sigarette al giorno (con filtro), ha smesso da 20 anni.

Anamnesi patologica remota: ha sofferto di bronchiti, polmoniti, silicosi.

Storia professionale: dal 1927 al 1946 ha lavorato come addetto ai forni presso la V.I.S. e poi presso la S.Gobain a Pisa dal 1946 al 1990 utilizzava guanti e tute in amianto per proteggersi contro il calore. Esposizione all'amianto probabile.

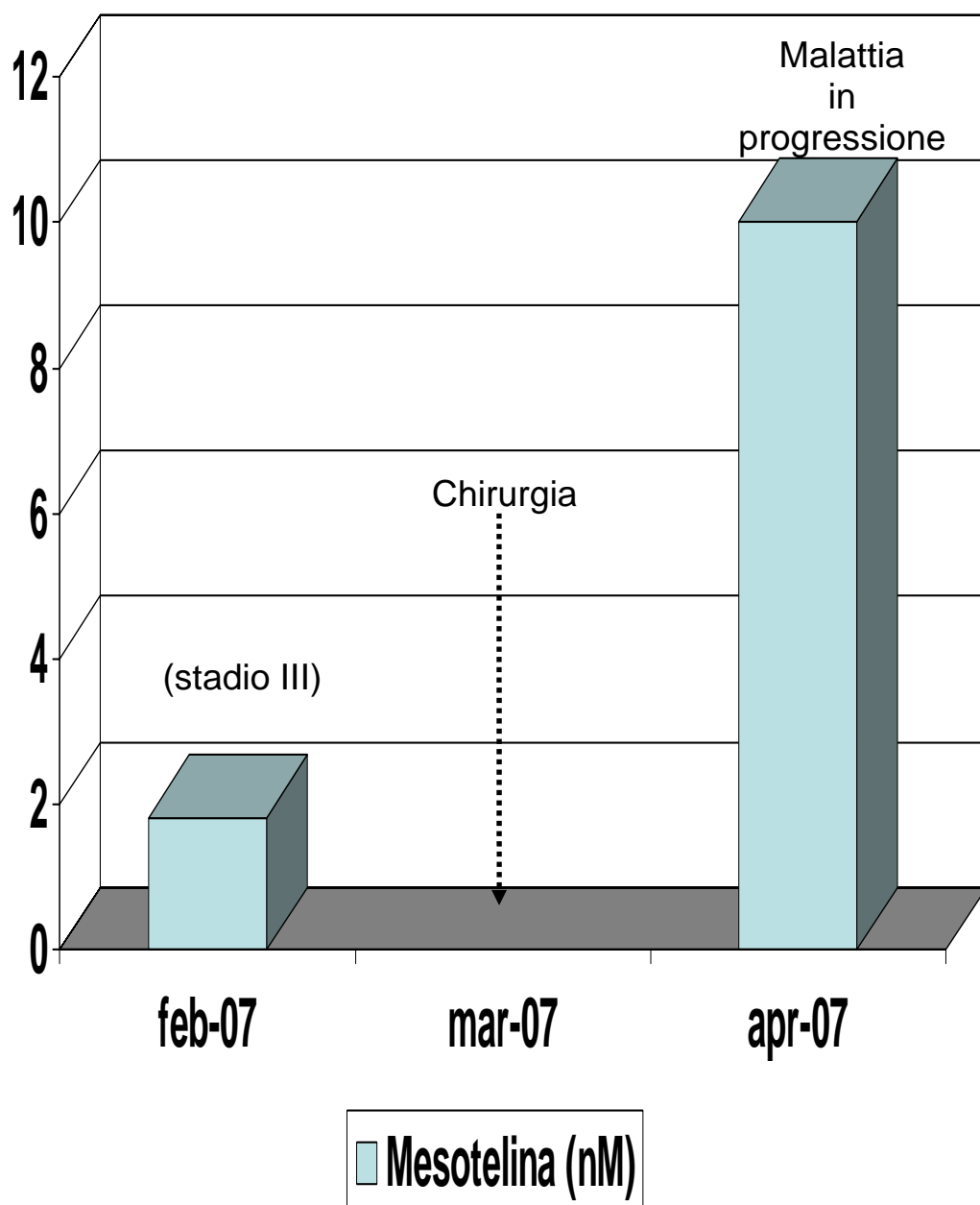
Anamnesi patologica prossima:

Stadio alla diagnosi: stadio IV (T3N2)

Terapia:

- 1° prelievo di mesotelina (15 febbraio 2007): 1,820 nM
 - Pleurectomia (8 marzo 2007)
- 2° prelievo di mesotelina (27 aprile 2007): 10,01 nM; la malattia è in rapida progressione.

B.A.: maschio, 73aa, MPM epitelioromorfo



4. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il Mesotelioma Maligno della Pleura è un tumore professionale “paradigmatico” sotto diversi aspetti. Innanzitutto riconosce come eziologia professionale ben identificata la pregressa esposizione ad amianto in una proporzione considerevole dei casi. Si caratterizza inoltre per una latenza tra l’inizio dell’esposizione e l’esordio clinico particolarmente lunga finanche 30-40 anni. Come per tutti i cancerogeni chimici anche per l’amianto non viene riconosciuta una dose soglia e anche dosi particolarmente basse non sono prive di rischi; si pensi, per esempio, ai casi insorti in mogli di lavoratori esposti il cui unico contatto con la fibra cancerogena derivava dalle operazioni di lavaggio domestico degli abiti da lavoro del coniuge. Il lungo periodo di latenza e l’ampiezza della popolazione esposta in passato fino ai primi anni ’90, sia per motivi professionali che extraprofessionali, impongono, per necessità di ordine etico ed economico, una sorveglianza medica degli esposti mirata ad una prevenzione secondaria del mesotelioma così come del tumore del polmone.

Fino ad anni recenti il mesotelioma era considerato un tumore raro (sotto la soglia di incidenza di 1/100.000 abitanti per anno), ma i dati epidemiologici attuali suggeriscono che questo non sia più il caso di questo tumore visto che l’incidenza attuale su base nazionale ha da qualche tempo superato la convenzionale soglia dei “tumori rari”. Ci sono inoltre regioni d’Italia come la zona di Casale Monferrato, la costa ligure (con epicentri in Genova e La Spezia), l’area costiera della provincia di Livorno o la provincia di Pistoia in Toscana che vedono tassi di incidenza notevolmente più alti della media nazionale. In più, le stime

epidemiologiche per gli anni a venire sono a dir poco drammatiche. Il picco di incidenza per i soli paesi dell'Europa occidentale è previsto tra il 2018 ed il 2020 ed a tale epoca si prevede che nei 35 anni compresi tra il 1994 ed il 2029 si registreranno circa 250.000 morti per mesotelioma, passando da circa 5000 morti anno del 1998 fino a 9000 morti/anno nel 2018. La classe di età più a rischio di mesotelioma in Italia, come nel resto dell'Europa occidentale, sembra essere quella dei nati tra il 1945 ed il 1950, tanto che in questa classe di età è previsto che circa 1:150 dei maschi europei occidentali morirà di mesotelioma. Tutte queste considerazioni epidemiologiche si basano su dati raccolti solo negli stati Europei occidentali membri del primo nucleo costituitosi agli inizi degli anni '90. Nei paesi dell'Europa orientale la situazione sarà peggiore visto che la messa al bando dell'asbesto laddove è stata attuata è avvenuta con significativo ritardo. Inoltre anche il livello di esposizione attuale di tipo ambientale in tali paesi sembra essere estremamente preoccupante. A fronte di questi dati così drammatici ad oggi non esistono protocolli diagnostici su cui vi possa essere un consenso universale in merito alla loro reale efficacia. La complessità del tipo di approccio terapeutico richiesto, associato alla relativa rarità del tumore nel passato nonché alla prognosi estremamente infausta dello stesso, hanno impedito la messa a punto di studi ben controllati su approcci terapeutici multidisciplinari portati avanti su casistiche consistenti.

Eppure “non si può rimanere con le mani in mano” di fronte all'ondata di nuovi casi che ci aspettano. Per una prevenzione secondaria dei lavoratori esposti, che costituiscono un modello di azione trasferibile in futuro alla popolazione generale, sono stati proposti diversi protocolli essenzialmente basati su esami radiologici spesso privi di razionalità dal punto di vista radioprotezionistico. Da qui la necessità di mettere a punto sistemi che siano economici, non invasivi, non pericolosi ed efficaci che

aiutino sia nella diagnosi precoce che eventualmente nell'individuare gruppi a maggior rischio di tumore asbesto indotto, nonchè utili ai fini prognostici o di monitoraggio della risposta alla terapia.

In questo ambito numerosi sono stati gli studi degli ultimi anni finalizzati a valutare il significato clinico e preventivo di markers da dosare nel siero di esposti sani o malati di mesotelioma. Tra i più interessanti in questo senso si è dimostrato essere la Mesotelina sierica. Valori elevati di questa glicoproteina sono risultati associati in maniera statisticamente significativa al mesotelioma (Robinson et al. lancet; Hassan et al.; Scheerperel et al.; Cristaudo et al.) e al tumore polmonare (Cristaudo et al.). Questo dato, ribadito da più autori, suggerisce che il marcatore potrebbe avere una applicazione clinica di tipo diagnostico soprattutto in diagnosi differenziale laddove potrebbe aggiungersi agli strumenti già esistenti. In particolare Robinson et al riscontrarono valori elevati di mesotelina solo in 7 ex esposti ad amianto su un totale di 40 e sorprendentemente ben 4 di essi svilupparono un tumore amianto correlato (3 mesoteliomi e 1 tumore del parenchima polmonare) in un arco temporale di 1-5 anni successivi al dosaggio. Studi longitudinali prospettici saranno utili per verificare se tale marcatore ha un reale valore predittivo.

Dal punto di vista clinico invece sono ancora pochi gli studi mirati alla validazione del marcatore sierico nella diagnosi differenziale, nella prognosi e nel monitoraggio dei pazienti con mesotelioma dopo trattamento terapeutico. Pochi riferimenti nelle pubblicazioni esistenti basati su un numero limitato di casi, suggerirebbero che i livelli di mesotelina sono direttamente proporzionali alla massa tumorale in soggetti con Mesotelioma maligno.

Lo scopo della presente tesi è stato quello di sondare, attraverso un piccolo "studio pilota" su qualche caso di mesotelioma, l'andamento di

valori sierici di mesotelina, in relazione al decorso della malattia e ad eventuali interventi terapeutici.

I casi selezionati provengono da una casistica più ampia di mesoteliomi di cui siamo in possesso di dati clinico-anamnestici nonché di campioni di sangue e tessuto conservati in una nostra banca biologica. La maggior parte (68 %) dei pazienti con diagnosi di mesotelioma appartenenti alla intera nostra casistica (da cui sono stati tratti i casi della presente tesi) presentava valori di mesotelina superiori a 1nM. Tra i diversi pazienti con diagnosi di mesotelioma sottoposti a dosaggi seriatî di mesotelina sierica ne sono stati individuati sei, per i quali era disponibile l'informazione in merito allo stadio di malattia, alle condizioni cliniche generali, ed alla terapia effettuata sufficienti allo scopo di questa tesi.

L'analisi dei valori di mesotelina registrati in questi sei pazienti ha dimostrato che tale marcatore potrebbe rivelarsi un buon indicatore di risposta al trattamento terapeutico, rimanendo questo stabile in concentrazione ematica laddove le terapie hanno ottenuto il risultato di una cronicizzazione del caso e tende invece a ridursi quando il paziente presenta un benché piccolo miglioramento clinico post-terapeutico o ad aumentare progressivamente se il tumore risulta insensibile ad ogni trattamento.

Questa prima esperienza incoraggia ad intraprendere studi sul funzionamento del marker sotto l'aspetto sopra evidenziato con il coinvolgimento di una casistica più ampia ed un progetto di ricerca avente tale specifico scopo.

5. BIBLIOGRAFIA

Atti del Seminario di Studio: “Lavoratori esposti amianto – indagine conoscitiva sullo stato dell’ordinamento nazionale e regionale e sugli effetti dell’azione del governo regionale”, Firenze 2005.

Balboni, “anatomia” , volume 2, terza edizione; ristampa aggiornata 2000.

Bianchi C, Giarelli L, Grandi G, Broilo A, Ramani L, Zuch C.: “Latency periods in asbestos-related mesothelioma of the pleura”. Eur J Cancer Prev 1997 Apr.

Boutin C, Dumortier P, Rey F, et al: “Black spots concentrate oncogenic asbestos fibres in the parietal pleura”. Am J Resp Crit Care Med 1996; 153: 444-449

Carbone M et al: “Genetic-susceptibility factor and malignant mesothelioma in the Cappadocian region of Turkey”. Lancet 2001 Feb 10;357 (9254): 444/5

Casula D; “Medicina Del Lavoro” terza edizione, 2003.

Chella A; “Dal Versamento Pleurico al Sospetto di Mesotelioma: possibile iter diagnostico”; Atti del Convegno “Le patologie correlate all’amianto e la sorveglianza sanitaria degli ex-esposti” Pisa 21-22 Aprile 2005

Chang K, et al.: "Characterization of the antigen (CAK1) recognized by monoclonal antibody K1 present on ovarian cancers and normal mesothelium." Cancer Res 1992; 52: 181–86.

Chatterjee S K, Zetter B R: "Cancer biomarkers: knowing the present and predicting the future". Future Oncology (2005); 1 (1), 37-50.

Chiappino G. "Mesotelioma: il ruolo delle fibre ultrafini e conseguenti riflessi in campo preventivo e medico legale."; La Medicina del Lavoro, 2005; 96,1:3-23.

Cristaudo A, Foddìs R et al.: "SV40 enhances the risk of malignant mesothelioma among people exposed to asbestos: a molecular epidemiologic case-control study. Cancer Research, 2005

Dodoli D, Buselli R et al.: "Le applicazioni dell'amianto e mesoteliomi nell'industria cantieristica navale: rassegna della letteratura". Atti del Convegno Nazionale Mesoteliomi maligni ed esposizioni professionali ed extraprofessionali, Pisa 1990.

Falaschi F ; "Caratteristiche radiologiche delle patologie tumorali correlate all'amianto", Atti del Convegno "Le patologie correlate all'amianto e la sorveglianza sanitaria degli ex-esposti" Pisa 21-22 Aprile 2005

Fontanini G: "La diagnosi cito-istologica ed immunoistochimica del mesotelioma pleurico". Atti del Convegno Nazionale Le patologie correlate all'amianto e la sorveglianza sanitaria degli ex-esposti – Pisa 2005.

Gorini G et al: “L’epidemiologia del mesotelioma maligno pleurico: i dati dell’archivio regionale Toscano (ARTMM)”. Atti del Convegno Nazionale Le patologie correlate all’amianto e la sorveglianza sanitaria degli ex-esposti – Pisa 2005.

Guglielmi G, Dipalma N. et al: “L’esperienza della medicina del lavoro della Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana nella sorveglianza sanitaria degli ex-esposti ad amianto”. Atti del Convegno Nazionale Le patologie correlate all’amianto e la sorveglianza sanitaria degli ex-esposti – Pisa 2005.

Gustavsson P: “Cancer Prevention”. In Encyclopedia of Occupational Health and Safety- ILO/BIT ed. Geneva (CH) 1998- vol. 1 pag. 214-218

Guyton & Hall. “Fisiologia medica” , nona edizione, 1996.

Harvey I., Pass M.D., Dan Lott B.S., Fluvio Lonardo M.D. et al: Asbestos Exposure, Pleural Mesothelioma, and Serum Osteopontin levels ; The N.Eng.Journ. of Med 353 ;15 oct 2005

Hassan R et al.: “Detection and quantitation of serum mesothelin, a tumor marker for patient with mesothelioma and ovarian cancer”. Clin Cancer Research 2006; 12 (2): 447-453)

Hassan R, Bera T and Pastan I: “Mesothelin: A New Target for Immunotherapy”. Clinical Cancer Research 2004; 10: 3937-3942

Loi A M: "La posizione dei Servizi Pubblici di Prevenzione toscani sulla sorveglianza sanitaria degli ex-esposti ad amianto". Atti del Convegno Nazionale Le patologie correlate all'amianto e la sorveglianza sanitaria degli ex-esposti – Pisa 2005.

Lucchi M, Mussi A: "Il Mesotelioma Pleurico: dalla Diagnosi alla Terapia Chirurgica". Atti del Convegno Nazionale Le patologie correlate all'amianto e la sorveglianza sanitaria degli ex-esposti – Pisa 2005.

Onda M et al.: "Megakaryocyte potentiation factor cleaved from mesothelin precursor is a useful tumor marker in the serum of patients with mesothelioma". Clin Cancer Research 2006; 12 (14): 4225-4231).

Ottenga F et al: "Il quadro clinico anamnestico del mesotelioma maligno della pleura". Atti del Convegno Nazionale Le patologie correlate all'amianto e la sorveglianza sanitaria degli ex-esposti – Pisa 2005.

Peto J et al.: "The European mesothelioma epidemic." Br J Cancer 1999;79: 666-722

Pinelli M, Chellini E et al. UO Epidemiologia Ambientale Occupazionale - CSPO, Istituto Scientifico Prevenzione Oncologica, Firenze.

Pira E, Piolatto P G, Scansetti G: "Criteri e metodi per il controllo periodico dei lavoratori esposti a cancerogeni". Atti 62° Congresso SIMLII- Genova 1999- vol I: 111-129

Pesenti B. Mosconi G: "Piano Regionale amianto Lombardia – Sorveglianza sanitaria ex esposti ad amianto". Atti del Convegno

Nazionale Le patologie correlate all'amianto e la sorveglianza sanitaria degli ex-esposti – Pisa 2005.

Peto J et al. *The European mesothelioma epidemic.* Br J Cancer 1999;79: 666-72

Petrik D W, H. Cao, Y. Zhu, P. Wong, P. Sutphin, A. J. Giaccia, A. A. Koong and Q. T. Le An expanded study of the relationship between osteopontin, tumor pO₂ and prognosis in head and neck squamous cell carcinomas , *Journal of Clinical Oncology*, 2005 ASCO Annual Meeting Proceedings Vol 23, No 16S (June 1 Supplement), 2005: 5521

Pots F, Roller M., Zien U., Reiffer F.J., Bellmann B. “Carcinogenicity studies on natural and man-made fibres with intraperitoneal test in rats”. in Bignon J., Pety J., Saracci eds. (1989)

Ricci S., Chioni A., Iannopollo M., Di Donato S., Pastina I., Cresti N.; “Terapia Medica del Mesotelioma Pleurico”; Atti del Convegno “Le patologie correlate all'amianto e la sorveglianza sanitaria degli ex-esposti” Pisa 21-22 Aprile 2005

Robbins e Cotran. *Le basi patologiche delle malattie 7° edizione a cura di Cotran, Kumar, Collins. Edizione Piccin 2006*

Robinson B W S, et al.: “Mesothelin-family proteins and diagnosis of mesothelioma.” Lancet 2003;362:1612–6.

Rogers A J et al: "Relationship between lung asbestos fiber type and concentration and relative risk of mesothelioma. A case-control study". Cancer 67: 1912-1920; (1991)

Roggli VL, Sharma A : "Analysis of tissue mineral fibre content". In roggli VL, Oury TD, Sporn TA(eds): Pathology of Asbestos-Associated Disease. New York: Springer: 150-160

Sandhu H, Dehen W, Roller M, Abel J, Unfried K. *mRNA expression patterns in different stages of asbestos-induced carcinogenesis in rats*. Carcinogenesis 2000; 21: 1023-9.

Scherpereel A et al.: " Soluble mesothelin-related peptides in the diagnosis of malignant pleural mesothelioma". American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 2006; 173: 1155-1160.

Shiomi K et al.: "Novel ELISA system for detection of N-ERC/mesothelin in the sera of mesothelioma patients". Cancer Sci., September 2006; 97 (9): 928-932

Scholler N et al. : "Soluble member(s) of the mesothelin/megakaryocyte potentiating factor family are detectable in sera from patients with ovarian carcinoma". Proc Natl Acad Sci USA 1999; 96: 11531–36.

Verdel U G, Ripanucci G R.: "Valutazione dell'esposizione ad amianto ai fini dei benefici previdenziali". Consulenza Tecnica Rischi Professionali, Dati INAIL – 1971.

Wagner J C, Sleggs C.A., Marchand P.: “Diffusal pleural mesothelioma and asbestos exposure in North-WesternCape Province.” Br. J. Ind. Med. 17: 260 –271(1960).

Harvey I. , Pass M.D., Dan Lott B.S., Fluvio Lonardo M.D. et al: Asbestos Exposure, Pleural Mesothelioma, and Serum Osteopontin levels ; The N.Eng.Journ. of Med 353 ;15 oct 2005

Ringraziamenti:

Desidero ringraziare il Chiar.mo Prof. Franco Ottenga e il dottor Rudy Foddis che mi hanno guidato nella scelta e nello svolgimento del presente lavoro.

Ringrazio la Dottoressa Silvia Simonini e il Dottor Salvio Perretta per il loro valido aiuto nell'esecuzione e preparazione della tesi.

Ringrazio i miei genitori che mi hanno permesso di raggiungere questo importante traguardo.

Ringrazio le mie sorelle che, anche se spesso fisicamente lontane, sono sempre così incredibilmente vicine.

Ringrazio Andrea che con la sua pazienza e il suo amore concreto mi ha sempre incoraggiato e aiutato.

Desidero infine ringraziare le tante persone dalle quali, in questi anni, mi sono sentita voluta veramente bene.